TOMO II FACICULO I

MEMORIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

RIO DE JANEIRO — MANGUINHOS

ABRIL DE 1910

SUMARIO:

Paj.

I — Dr. MAX HARTMANN — Nova ameba intestinal, Entamoeba testudinis, n. sp. (Estampa I) 3
II — Dr. A. GODOY — Nova vacina contra o carbunculo sintomatico (1 fig. no texto) .. 11
III — Dr. GOMES DE FARIA — Contribuição para a sistematica helmintolojica brazileira. II. — Dicrocoelium infidum, n. sp. Parazito da vezicula biliar da Eunectes murina. L. 22
IV — Dr. ARTHUR MOSES — Cazos de infeção pelo bacilo paratifico A e pelo Enteritidis (Gaertner) 29
V — Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Pesquizas sobre a Polytomella agilis n. g., n. sp. (com a estampa 3) 42
VI — Dr. ADOLPHO LUTZ — Notas dipterolojicas 58
VII — Drs. Prof. MAX HARTMANN e CARLOS CHAGAS — Estudos sobre flajelados (Estampas 4 a 9 e fig. no texto) 64
VIII — Dr. A. GODOY — Estudo quantitativo sobre a germinação dos espóros 126
IX — Dr. ARTHUR NEIVA — Formação de raça do hematozoario do impaludismo rezistente á quinina 131
X — Dr. A. FONTES — Algumas considerações sobre a infeção tuberculoza e o seu respetivo virus 141

SOMMAIRE:

I — Dr. MAX HARTMANN — Ueber eine neue Darmamoebe, Entamoeba testudinis n. sp. (Hierzu Tafel I.) 3
II — Dr. A. GODOY — Un nouveau vaccin contre le charbon symptomatique (1 fig. dans le texte) 11
III — Dr. GOMES DE FARIA — Contribution towards the classification of brazilian Entozoa
II. Dicrocoelium infidum, n. sp., parazite of the gall bladder of Eunectes murina. L. (With plate 2 and 1 fig.) 22
IV — Dr. ARTHUR MOSES — Zwei Beobachtungen ueber Infectionen durch Paratyphus- und Enteritidis-Bacillen 29
V — Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Untersuchungen ueber Polytomella agilis n, g., n. sp. (Hierzu Tafel 3) 42
VI — Dr. ADOLPH LUTZ — Dipterologische Notizen 58
VII — Prof. Dr. M. HARTMANN und Dr. CARLOS CHAGAS — Flagellaten-Studien (Hierzu Taf. 4—9 und Textfiguren) 64
VIII — Dr. A. GODOY — Ueber die Keimung der Sporen 126
IX — Dr. A. NEIVA — Ueber die Bildung einer chininresistenten Rasse des Malariaparasiten 131
X — Dr. A. FONTES — Bemerkungen ueber die Tuberkulose-Infection und ihr Virus .. 141

AVIZO As « MEMORIAS » serão publicadas em faciculos, que não aparecerão em datas fixas e que formarão volumes de mais ou menos 200 pajinas. No minimo, aparecerá um volume por ano.

Na parte escrita em portuguez foi adotada a grafia aconselhada pela Academia de Letras do Rio de Janeiro.

Toda correspondencia relativa ás « MEMORIAS » deverá ser dirijida ao **« Diretor do Instituto Oswaldo Cruz — Caixa postal 926 — Manguinhos — Rio de Janeiro »**. Endereço telegrafico: **« Manguinhos »**.

AVIS Les « MEMOIRES » seront publiés par fascicules qui ne paraitront pas en époques déterminées et qui formeront des volumes d'à peu près 200 pages. Il paraitra chaque année, au moins, un volume.

La partie portugaise est écrite selon la graphie adoptée par l'Académie de Lettres de Rio de Janeiro.

Toute correspondance doit être adressée au « **Directeur de l'Institut Oswaldo Cruz — Caisse postale 926 — Manguinhos — Rio de Janeiro** ». Adresse télégraphique: « **Manguinhos** ».

MEMORIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

TOMO II

COM 22 ESTAMPAS E 19 FIGURAS NO TEXTO

RIO DE JANEIRO — MANGUINHOS

1910

2760 - 11

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/memorias-do-instituto-oswaldo-cruz_1910_2_1

INDICE

FACICULO I

Paj.

Dr. MAX HARTMANN — Nova ameba intestinal, Entamoeba testudinis n. sp. (Estampa 1) 3

Dr. A. GODOY — Nova vacina contra o carbunculo sintomatico (1 figura no texto)..... 11

Dr. GOMES DE FARIA — Contribuição para a sistematica helmintolojica brazileira. II. — Dicrocoelium infidum n. sp. Parazito da vezicula biliar da Eunectes murina, L. (Estampa 2 e 1 figura no texto) 22

Dr. ARTHUR MOSES — Cazos de infeção pelo bacilo paratifico A e pelo Enteritides (Gaertner) 29

Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Pesquizas sobre a Polytomella agiils n.g., n.sp. (com a estampa 3)..... 42

Dr. ADOLPHO LUTZ — Notas dipterolojicas..... 58

Prof. Dr. MAX HARTMANN e Dr. CARLOS CHAGAS — Estudos sobre flajellados (Estampas 4 a 9 e figs. no texto) 64

Dr. A. GODOY — Estudo quantitativo sobre a germinação dos espóros 126

Dr. ARTHUR NEIVA — Formação de raça do hematozoario do impaludismo rezistente á quinina..... 131

Dr. A. FONTES — Algumas considerações sobre a infeção tuberculoza e o seu respectivo virus 141

Dr. MAX HARTMANN — Ueber eine neue Darmamoebe, Entamoeba testudinis n. sp. (Hierzu Tafel I.) 3

Dr. GODOY — Un nouveau vaccin contre le charbon symptomatique (1 fig. dans le texte) 11

Dr. GOMES DE FARIA — Contribution towrds the classification of brazilian Entozoa. II. — Dicrocoelium infidum n. sp., parazite of the gall bladder of Eunectes murina, L. (With plate 2 and 1 fig.)..... 22

Dr. ARTHUR MOSES — Zwei Beobachtungen ueber Infectionen durch Paratyphus A und Enteritidis-Bacillen..... 29

Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Untersuchungen ueber Polytomella agilis n.g., n.sp, (Hierzu Tafel 3)..... 42

Dr. ADOLPH LUTZ — Dipterologische Notizen..... 58

Prof. Dr. M. HARTMANN und Dr. CARLOS CHAGAS — Flagellaten-Studien (Hierzu Taf. 4—9 und Textfiguren)..... 64

Dr. A. GODOY — Ueber die Keimung der Sporen 126

Dr. A. NEIVA — Ueber die Bildung einer chininresistenten Rasse des Malariaparasiten.. 131

Dr. A. FONTES — Bemerkungen ueber die Tuberkulose-Infection und ihr Virus..... 141

FACICULO II

Paj.

Dr. S. VON PROWAZEK — **Contribuição para o conhecimento da fauna de protozoarios do Brazil** (Com trez figuras no texto) 149

Prof. Dr. MAX HARTMANN e Dr. CARLOS CHAGAS—**Sobre a divizão nuclear da Amoeba hyalina Dang.** (Com estampa 10) 159

Dr. CARLOS CHAGAS — **Estudos de citolojia em nova especie de coccidio,"Adelea hartmanni", do intestino do Dysdercus ruficollis L** (Com as estampas 11—15) 168

Dr. A. FONTES — **Estudos sobre tuberculoze** (Com as estampas 16 e 17) 186

Dr. ARTHUR NEIVA — **Informaçõis sobre a biolojia do Conorhinus megistos Burm** 206

Dr. ADOLPHO LUTZ — **Segunda contribuição para o conhecimento das especies brazileiras do genero "Similium"** (Com as Estampas 18—21) 213

Dr. ARTHUR MOSES — **Soro antidizenterico. Metodos de dozajem** 268

Dr. GOMES DE FARIA— **Contribuição para a sistematica helmintolojica brazileira. III. Ancylostomum braziliense n. sp. Parazito dos gatos e cães** (Com estampa 22) 286

Dr. S. VON PROWAZEK — **Beitrag zur Kenntnis der Protozoenfauna Brasiliens** (Mit 3 Figuren) 149

Prof. Dr. MAX HARTMANN und Dr. CARLOS CHAGAS — **Ueber die Kernteilung von Amoeba hyalina Dang** (Mit Taf. 10) 159

Dr. CARLOS CHAGAS — **Cytologische Studien über "Adelea hartmanni", ein neues Coccidium aus dem Darme von Dysdercus ruficollis L.** (Mit Tafeln 11 - 15). 168

Dr. A. FONTES — **Studien über Tuberkulose** (Hierzu Tafeln 16 und 17) 186

ARTHUR NEIVA — **Beitrâge zur Biologie des Conorhinus megistus Burm** 206

Dr. ADOLPH LUTZ — **Zweiter Beitrag zur Kenntnis der brasilianischen Simuliumarten.** (Mit Tafeln 18—21) 213

ARTHUR MOSES — **Ueber Dysenterieserum und seine Wertbestimmung** 268

Dr. GOMES DE FARIA — **Contribution towards the classification of brazilian Entozoa. III. Ancyclostumum braziliense n. sp.** Parasite of cats and dogs. (With Plate 22) 286

Nova ameba intestinal, Entamoeba testudinis n. sp.

PELO

Dr. Max Hartmann,

Membro do Instituto de Molestias infetuozas em Berlin.

(Estampa 1.)

Ueber eine neue Darmamoebe, Entamoebe testudinis n. sp.

VON

Max Hartmann,

Mitglied des Instituts für Infektionskrankheiten in Berlin.

(Hierzu Tafel 1.)

Nas fezes de uma tartaruga importada (*Testudo graeca*) foram verificados, ao lado dos flajelados habitualmente encontrados (Trichomonas) uma ameba relativamente grande e um infuzorio.

Já pelo exame a fresco se poude verificar que se tratavam de dous organismos ainda não descritos; o infuzorio é especie nova de *Balantidium* e a ameba é verdadeira fórma parazitaria do genero *Entamoeba*. O Dr. CHAGAS empreendeu o estudo do infuzorio e eu o da ameba que passo a descrever sob o nome de « *Entamoeba testudinis* ».

Infelizmente a ameba só apareceu durante alguns dias e, assim mesmo, em pequena quantidade. Tendo nós sacrificado a tartaruga ao cabo de algumas semanas, encontrámos, tambem, a ameba nas porções superiores de intestino, reprezentada, porém, por poucos exemplares, emquanto que o infuzorio, associado a nematoideos, enchia completamente as rejiões superiores do tubo intestinal. Note-se ainda, que a tartaruga aprezentava um pouco de diarréa; era suficiente deital-a de costas para que logo defecasse.

In den Entleerungen einer importierten europäischen Landschildkröte (*Testudo graeca*) fanden sich neben den regelmässig vorhandenen Flagellaten (Trichomonaden) auch eine verhältnissmässig grosse Amoebenart und ein Infusor. Schon bei der Lebenuntersuchung stellte es sich heraus, dass es sich um zwei noch nicht beschriebene Organismen handelt, und zwar bei dem Infusor um eine neue *Balantidium*-Art, bei der Amoebe um eine echte parasitäre Form der Gattung *Entamoeba*. Die genaue Untersuchung des Infusors hat Herr Dr. CHAGAS übernommen, ich die der Amoebe, die ich in Folgendem unter dem Namen *Entamoeba testudinis* beschreibe.

Leider fand sich die Amoebe nur an wenigen Tagen in den Entleerungen der Schildkröte und auch dann nur in äusserst geringer Anzahl. Als wir nach einigen Wochen die Schildkröte töteten, trafen wir die Amoebe auch in dem obersten Teil des Dickdarmes, aber auch nur in ganz wenigen Exemplaren, während das Infusor zusammen mit Nematoden den Inhalt des oberen Darmabschnittes vollkommen ausfüllten. Bemerkt sei noch, dass die

Os preparados foram obtidos do seguinte modo: tenues camadas de fezes distendidas sobre laminulas eram fixadas no estado humido pelo sublimado alcool de SCHAUDINN ou pelo liquido de HERMANN e córadas pela hematoxilina ferrea de HEIDENHAIN. Sejam aqui consignados os mais calorozos agradecimentos ao Dr. CHAGAS e ao Snr. MACHADO que me fizeram os preparados microscopicos.

O tamanho da *Entamoeba testudinis* varia de 50 a 70 μ; é, assim, a maior entameba até agora conhecida em vertebrados, e só excedida apenas em tamanho por uma unica fórma parazitaria, a *Entamoeba blattae*. Como adiante veremos, esta ameba reprezenta em outros pontos como que o estádio intermediario entre a especie acima referida e as amebas dos vertebrados.

No estado vivo faz lembrar muito as amebas da dizenteria humana, sobretudo a *Entamoeba tetragena*, da qual, porém, se diferencia imediatamente pelo tamanho.

Como ellas, deixa ver nitida separação do ectoplasma homojenio fortemente refrinjente com o endoplasma repleto de vacuolos. No estado de repouzo, o ectoplasma cerca regularmente o endoplasma; quando em movimento, coloca-se a um dos lados. O movimento se faz como na *Amoeba limax*, pela emissão de um só pseudopódio e a ameba corre toda para essa direção, alongando-se como uma gôta. A' parte posterior, vê-se muitas vezes apendice endoplasmico com aspeto de pequeno pseudopódio; provavelmente se trata de produtos de excreção, que, por algum tempo, ainda ficam aglomerados por liquido aglutinativo. (Fig. 1, Est. 1).

O endoplasma é alveolado e as mais das vezes repleto de bacterios englobados semi-dijeridos, de pequenos lêvedos, etc. No interior da ameba não foram vistas hemátias, assim como não se verificou a existencia de vacuolos contrateis. Em prepa-

Schildkröte anscheinend etwas an Diarrhöe litt; man brauchte sie nur auf den Rücken zu legen, um jedezeit Fäces von ihr zu erlangen.

Präparate wurden in der Weise hergestellt, dass Deckglasausstriche feucht mit Sublimatalkohol nach SCHAUDINN oder mit HERMANN'scher Flüssigkeit fixiert und mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt wurden. Den Herren DR. CHAGAS und MACHADO, die die Präparate angefertigt haben, sei auch an dieser Stelle mein wärmster Dank ausgesprochen.

Die Grösse der *Entamoeba testudinis* beträgt circa 50—70 μ; sie ist mithin die grösste der bisher bei Wirbeltieren bekannten Entamoeben und wird an Grösse nur noch von einer parasitären Form, der *Entamoeba blattae* übertroffen. Wie wir noch sehen werden, nimmt sie auch in anderer Beziehung eine Art Mittelstellung ein zwischen der abweichenden letzt genannten Art und den Wirbeltieramoeben.

Im Leben erinnert sie sehr an die Dysenterie-Amoeben des Menschen, speciell die *Entamoeba tetragena*, von der sie aber durch ihre Grösse sofort unterscheidbar ist. Wie jene weist sie in der Regel eine deutliche Sonderung in ein homogen erscheinendes, stark lichtbrechendes Ectoplasma und ein mit Vakuolen etc. erfülltes Entoplasma auf. In der Ruhe umgiebt das Ectoplasma gleichmässig das letztere, bei der Bewegung befindet es sich stets an einer Seite. Die Bewegung geschieht nämlich nach Art der *Limax*-Amoeben, indem nur ein einziges Pseudopodium gebildet wird und die Amoebe als lang gestreckter Tropfen nach einer Richtung fliesst. An dem Hinterende sieht man häufig einen kleineren pseudopodiumartigen Anhang von Entoplasma; es handelt sich wahrscheinlich um Abscheidungsprodukte, die zusammen mit einer klebigen Flüssigkeit noch eine zeitlang mitgeschleppt werden (Fig. 1, Taf. 1).

Das Entoplasma ist alveolär und meist ganz von gefressenen und halbverdauten Bakterien, kleinen Hefezellen etc. erfüllt. Blutkörperchen wurden darin

rados fixados e córados é mais vizivel a estrutura alveolar, sobretudo quando existe pequeno numero de incluzões alimentares (Fig. 2, Est. 1).

O nucleo é claramente vizivel no estado vivo e comparativamente grande e as mais das vezes oval (cerca de 12,5 μ, quando esferico, ou 11,5 a 15 μ quando oval). A forma ovalar faz lembrar mais a do nucleo da *Entamoeba blattae*, contrariamente á fórma esferica das amebas dos vertebrados. E' separado do plasma por membrana nitida compacta de duplo contorno. Dentro delle, observa-se uma zona periferica de finas granulações (cromatina), depois uma zona anista clara e ao centro uma massa mais igual de fórma raramente esferica, as mais das vezes de fórma alongada sem contorno regular (cariozoma intumecido (Fig. 1, Est. 1). A estrutura total do nucleo já no estado vivo se assemelha a da *Entamoeba tetragena* (Hartmann 1908), o nucleo é apenas maior, raramente esferico, as trez camadas mais fortemente dezenvolvidas e o cariozoma irregular.

Tal semelhança com a *E. tetragena* é notavel tambem nos preparados fixados e córados. Aqui tambem puderam ser verificadas claramente as variações ciclicas do cariozoma. A maioria dos nucleos mostra as trez zonas descritas na ameba, em estado vivo (Est. 1, Fig. 2 e 3).

A zona periferica do nucleo exterior mostra numerozas granulações cromaticas numa rede de linina de estrutura alveolar; tais granulações podem ser tão grandes e tão confluentes que podem, nos preparados, ocultar toda a estrutura interna. O grande cariozoma entumecido aprezenta igualmente estrutura alveolar, encerra, porém, nesse estado pouca cromatina. No interior delle encontram-se na maioria das vezes, um ou dous centriolos (Est. 1, Fig. 3). Quando existem espalhadas no interior do nucleo diferentes granulações de cromatina do volume dos centriolos, nicht beobachtet; ebenso auch keine kontraktilen Vakuolen. In fixierten und gefärbten Präparaten, tritt die alveoläre Struktur noch deutlicher zu Tage, besonders wenn wenig Nahrungseinschlüsse vorhanden sind (Fig. 2, Taf. 1).

Der Kern ist im Leben deutlich zu sehen, er ist verhältnismässig gross (c. 12,5 μ, wenn er kugelig, oder c. 11,5 auf 15 μ, wenn er oval ist) und meist oval. In letzterer Hinsicht erinnert er also mehr an den der *Entamoeba blattae* im Gegensatz zu den meist kugeligen Kernen der Wirbeltieramoeben. Gegen das Plasma ist er durch eine deutliche, doppelkonturierte derbe Kernmembran abgegrenzt. Innerhalb desselben beobachtet man meist eine periphere Zone von feinen Körnern (Chromatin), dann eine helle strukturlose Schicht und im Zentrum eine mehr gleiche Masse von selfen kugeliger, meist etwas lang gestreckter Form und ohne glatten Kontur (aufgeblähtes Caryosom) (Fig. 1 Taf. 1). Die ganze Struktur des Kernes gleicht mithin schon in Leben der von *Entamoeba tetragena* (Hartmann 1908); nur ist der Kern grösser, selten kugelig, die drei Schichten stärker entwickelt und das Caryosom unregelmässig.

Auch an den fixierten und gefärbten Präparaten tritt die Aehnlichkeit mit der *E. tetragena* deutlich zu Tage. Vor allem konnte dabei das Vorkommen zyklischer Veränderungen am Caryosom in ähnlich klarer Weise konstatirt werden. Die meisten Kerne zeigen die bei der lebenden Amoebe beschriebenen drei Zonen. (Taf. 1, Fig. 2 u. 3). Die periphere Aussenkernzone weist in einem wabig gebauten Lininwerk reichlich chromatische Körner auf; letztere können so gross werden und so dicht gelagert sein, dass sie an Ausstrichpräparaten alle weiteren inneren Strukturen verdecken. Das grosse aufgeblähte Caryosom ist gleichfalls wabig gebaut, enthält aber in diesem Zustand wenig Chromatin. In seinem Inneren trifft man meist ein oder zwei Centriolen (Taf. 1, Fig. 3). Wenn mehr Chromatinkörnchen von der Grösse der Centriole in ihm

torna-se dificil, sendo mesmo ás vezes impossivel reconhecel-os. Na maioria das vezes são distinguiveis das granulações de cromatina por serem cercados de zona clara, emquanto que os ultimos se acham incluidos nas paredes dos alveolos. Esta estrutura nuclear regular, com o cariozoma de fórma pouco habitual é o rezultado de variações ciclicas que se processaram neste e em virtude das quais a forma primitiva compacta e esferica se transformou no corpo alveolar atualmente descrito. O empalidecimento e a transformação alveolar do cariozoma continuam sempre e formam-se entre elle e a zona periferica, primeiramente algumas e depois muitas paredes de linina, dezaparecendo assim progressivamente a camada media clara, e o cariozoma primitivo forma na camada periferica apenas estrutura alveolar de linina (Est. 1, Fig. 5 e 6) regularmente impregnada de cromatina.

Ao mesmo tempo as finas granulações de cromatina da zona periferica se reunem, formando grandes massas que na maioria das vezes se assestam imediatamente sobre a membrana nuclear (Est. 1, Fig. 4 e 6) No centro do cariozoma primitivo formou-se, entretanto, em torno do centriolo remanecente outro cariozoma, a principio pequeno e compacto (Est. 1, Fig. 5) que de novo se cerca de delgada orla clara (Est. 1, Figs. 4 — 6). Neste novo cariozoma vê-se o centriolo nos preparados bem diferenciados (Est. 1, Figs. 4 e 6). *

Como mostram as figs. 7 e 8 da Est. 1, pelo mesmo processo podem aparecer nucleos com egual estrutura alveolar com pequeno corpusculo interno e com pequenas granulações de cromatina espalhadas. Os blócos perifericos de cromatina são neste cazo de novo dissolvidos, e é pos-

* A zona clara entre a membrana nuclear e as granulações perifericas de cromatina nas Figs. 4 e 6 da Est. 1 é, provavelmente, consequencia da fixação.

zerstreut sind, so kann die Erkennung der Centriole sehr schwierig unter Umständen auch unmöglich sein. In den meisten Fällen erkennt man sie dadurch von den Chromatinkörnern, dass sie von einem hellen Hofe umgeben sind, während letztere in den Wabenwänden lagern. Diese reguläre Kernstruktur mit dem ziemlich ungewöhnlichen Caryosom ist nun das Resultat von zyklischen Veränderungen, die sich an letzterem abgespielt haben und wodurch seine ursprüngliche kugelige und kompakte Form zu dem beschriebenen wabigen Körper geworden ist. Die Aufblähung und das Wabigwerden des Caryosoms setzt sich nun weiter fort und es bilden sich zwischen ihm und der peripheren Zone zunächst nur einige wenige, dann mehr Lininwände, die helle mittlere Schicht verschwindet dadurch allmählich und das ursprüngliche Caryosom bildet in der peripheren Schicht nun ein gleichmässiges mit Chromatin inprägniertes Lininwabenwerk (Taf. 1, Fig. 5 u. 6). Gleichzeitig haben sich auch die feinen Körner der peripheren Zone zu grösseren Chromatinbrocken zusammen geklumpt, die nun meist der Kernmembran dicht anliegen. (Taf. 1, Fig. 4—6). Im Zentrum des ursprünglichen Cariosoms hat sich inzwischen um das zurückgebliebene Centriol ein neues, erst kleines, kompaktes Caryosom (Fig. 5) gebildet, das wieder von einer schmalen hellen Zone umgeben ist (Fig. 4—6). In diesem neuen Caryosom sieht man bei guter Differenzierung deutlich das Centriol (Fig. 4 u. 6). *

Wie die Figuren 7 und 8 zeigen, können auf die geschilderte Weise auch gleichmässig wabig gebaute Kerne mit kleinem Binnenkörper und kleinen, zerstreuten Chromatinkörnen zustande kommen. Die peripheren Chromatinbrocken sind in diesem Falle wieder aufgelöst, vermutlich in gelöster Form ans Plasma abgegeben worden. In der Fig. 7 sieht man

* Die helle Zone zwischen Kernmembran und peripheren Chromatinkörnern in den Fig. 4—6 ist wohl nur eine Folge der Fixation.

sivel que seja esta lançada em dissolução no plasma. Na fig. 7 vê-se apenas num dos pólos nucleares um de tais blócos que poderia ser tomado por segundo cariozoma; o verdadeiro cariozoma, porém, delle se diferencia pelas paredes alveolares radiadas e pela zona de granulações, disposta no limite da fileira alveolar mais interna. Na fig. 8, ao lado do cariozoma, nota-se no interior da zona clara um pequeno granulo de cromatina, que delle se separa por estrangulamento. Se tem este corpusculo significação especial, nada posso dizer.

No que respeita os processos de multiplicação, nada, infelizmente, encontrei em consequencia da escasssez de material: Uma vez, apenas, achei uma figura nuclear que talvez se relacione com a divizão nuclear (Est. 1, Fig. 9). Na trama de linina regularmente alveolada existiam em 2 pólos opostos, dous cariozomas irregulares, rezultantes talvez de mitoze intranuclear do cariozoma levada a cabo, como já foi descrito por mim na *Entamoeba histolytica* (Hartmann — 1909). Seria, todavia, possivel tambem que se tratassem de duas grandes massas de cromatina (anfinucleolos) e que o cariozoma e centriolo, não fossem viziveis em consequencia da completa dissolução do primeiro.

As fórmas nucleares aqui descritas na *Entamoeba testudinis* constituem mais um exemplo, altamente instrutivo das variações ciclicas do cariozoma por mim descritas na *Entamoeba tetragena*, que, segundo nossa maneira de ver (Hartmann e v. Prowazek 1907) constituem regra geral para os cariozomas e figuras analogas (centrozomios e blefaroplastos).

Figuras nucleares inda mais complicadas encontram-se na grande ameba *Entamoeba blattae* como o demonstraram as novas pesquizas de Janicki (1909). Este autor descreveu naquella ameba um pequeno cariozoma compacto com centriolo situado na parte central alveolada do nucleo nur an einem Kernpole noch einen solchen Brocken, der sogar als ein zweites Caryosom angesehen werden könnte; doch ist das eigentliche Caryosom an den radiär gestellten Wabenwänden und der Körnchenzone an der Grenze der innersten Wabenreihe deutlich als solches von ihm unterschieden. In Fig. 8 bemerkt man neben dem Caryosom innerhalb der hellen Zone ein kleines Chromatinkorn, das sich von ihm abschnürt. Ob ihm eine besondere Bedeutung zukommt, vermag ich nicht zu sagen.

Von Fortpflanzungsvorgängen habe ich infolge des sehr spärlichen Materials leider Nichts gefunden. Nur einmal traf ich ein Kernbild, das vielleicht mit einer Kernteilung in Beziehung steht (Fig. 9). In den gleichmässig wabigen Lininwerk lagen an den entgegengesetzten Polen zwei unregelmässige, klumpige Caryosome, vielleicht das Resultat einer intranucleär zu Ende geführten Caryosommitose, wie ich sie auch für *Entamoeba histolytica* beschrieben habe (Hartmann 1909). Immerhin wäre es auch möglich, dass nur zwei grössere Chromatinklumpen (Amphinucleolen) vorliegen und Caryosom und Centriol wegen völliger Auflösung des ersteren nicht zu beobachten sind.

Die hier beschriebenen Kernverhältnisse der *Entamoeba testudinis* sind ein weiteres, äusserst instruktives Beispiel der von mir für die *Entamoeba tetragena* beschriebenen zyklischen Veränderungen des Caryosoms, die nach unseren Anschauungen (Hartmann und v. Prowazek 1907) ganz allgemein den Caryosomen und analogen Gebilden (Centrosomen u. Blepharoplaste) zukommen. Noch kompliziertere Kernbilder finden sich bei der grossen *Entamoeba blattae*, wie die neuen Untersuchungen von Janicki (1909) zeigen. Derselbe beschrieb hierbei ein kompaktes kleines Caryosom mit Centriol in einer wabigen zentralen Kernpartie, die manchmal von einer hellen strukturlosen mittlere Zone umgeben ist. Ferner gibt er an, dass das Caryosom nicht in jedem Kern nachgewiesen werden konnte. In

que, ás vezes, é circundada de zona media clara, sem estrutura. Refere mais que o cariozoma não poude ser caraterizado em todos os nucleos. Neste cazo acontece como em nossa fig. 5 que o cariozoma sem o centriolo se transforma em massa alveolar. Si se comparam esta descrição e respetivas figuras com os dezenhos aqui reprezentados, torna-se evidente que tambem nesta ameba se processam no cariozoma modificações ciclicas analogas e produzem a complicada estrutura do nucleo.

O nucleo da *Entamoeba testudinis*, no tocante á seu aspeto total está colocado entre os da *Entamoeba tetragena* e da *E. blattae* e isto nos facilita o filiar o complicado tipo nuclear da ultima especie aos nucleos cariozomicos com nucleo exterior pouco dezenvolvido, com o que conseguimos mais ou menos a seguinte serie filojenetica: *Entamoeba muris*, *coli*, *buccalis*, *ranarum*, *histolytica*, *tetragena*, *testudinis e blattae*. No final duma monografia das entamebas, cuja primeira parte aparecerá, em breve, nos « Archiv. f. Protisten kunde » tratarei com maior minucia desse dezenvolvimento filojenetico.

As modalidades nucleares das duas ultimas especies de amebas, especialmente nos estádios em que não são mais viziveis o cariozoma e centriolo elucidam tambem aquellas fórmas nucleares dos protozoarios, que diferem do tipo habitual com cariozoma, como sejam os nucleos veziculozos sem cariozoma e os denominados nucleos em massa. Em ambos os cazos, trata-se simplesmente de nucleos cujos cariozomas se misturaram até o centriolo com o material do nucleo exterior em consequencia das variações ciclicas, e então a distinção do centriolo é dificil ou mesmo impossivel na estrutura alveolar impregnada de cromatina, como vimos tambem nas *Entamoeba testudinis* e *E. blattae*. Nos infuzorios, tambem, em que este tipo de nucleo é quazi geralmente espalhado notam-se tambem nucleos com cariozomas (*Chilodon* Enriques 1907, *Leucophrys* v. Prowazek

letzterem Falle ist es eben wie bei unserer Fig. 5 bis auf das Centriol ganz zu der wabigen Masse aufgelöst. Wenn man diese Beschreibung und seine Abbildungen mit den hier gegebenen Bildern vergleicht, so kann kein Zweifel bestehen, dass auch bei dieser Amoebe ähnliche zyklische Veränderungen sich an dem Caryosom abspielen und die komplizierte Struktur des Kernes bedingen.

Der Kern von *Entamoeba testudinis* steht eben in seiner ganzen Ausbildung etwa in der Mitte zwischen dem der *Entamoeba tetragena* und der *E. blattae* und das ermöglicht uns den komplizierten Kerntypus der letzteren Art von Caryosomkernen mit gering entwickeltem Aussenkern abzuleiten, wobei wir etwa zu folgender phylogenetischen Reihe gelangen: *Entamoeba muris*, *coli*, *buccalis*, *ranarum*, *histolytica*, *tetragena*, *testudinis* und *blattae*. Im Schlussteil einer monographischen Bearbeitung der Entamoeben, von der der erste Beitrag demnächst in dem «Archiv für Protistenkunde» erscheint, soll diese phylogenetische Entwicklung eingehender ausgeführt werden.

Die Kernverhältnisse der beiden letzten Amoebenarten, speziell die Stadien, wo scheinbar kein Caryosom und Centriol mehr vorhanden ist, werfen aber auch ein Licht auf jene Kernformen von Protozoen, die von dem gewöhnlichen Typus mit Caryosom abweichen, wie die bläschenförmigen Kerne ohne Caryosom und die sog. massigen Kerne. In beiden Fällen handelt es sich wohl einfach um Kerne, deren Caryosom sich bis auf die Centriole mit den Aussenkernmaterial, infolge der zyklischen Veränderungen gemischt haben, und das Centriol ist dann in dem mit Chromatin imprägnierten Wabenwerk nur schwer oder überhaupt nicht zu unterscheiden, wie wir das bei *Entamoeba testudinis* und *blattae* gesehen hatten. Doch kommen bei Infusorien, bei denen dieser Kerntypus fast allgemein verbreitet ist, auch Kerne mit Caryosomen vor (*Chilodon* Enriques 1907, *Leucophrys*, v. Prowazek 1909) und ich konnte bei einem kleinen

1909) e, neste, eu pude verificar, em um pequeno infuzorio d'agua doce, um centriolo. O Dr. Chagas publicará sobre este assunto observações muito interessantes que fez numa nova especie de *Balantidium* da tartaruga e dum novo infuzorio parazito dum caracol. Portanto, estou convencido de que todos esses tipos de nucleos se derivam, pela maneira descrita, dos simples nucleos cariozomicos, mormente porque já nestes cazos trata-se de nucleos com função vejetativa preponderante.

A *Entamoeba testudinis* é, como sobresae da descrição ácima, especie parazitaria bem caracteristica que por toda sua estrutura pertence ao genero *Entamoeba* e eleva a 7 o numero de especies indubitaveis deste genero. E' exato que, ha tempo e agora mesmo nesses ultimos anos, tem sido descrito, principalmente por Walker (1908), grande numero de amebas tidas como parazitarias, mas, na maioria dos cazos trata-se de amebas saprófitas cultivadas de fezes, dotadas de simples nucleo cariozomico, sem zona de cromatina vejetativa na periferia (Vide Naegler 1909). Como especies seguras de *Entamoeba* podemos apenas considerar as seguintes: 1) *Entamoeba muris* Grassi, (Wenyon descreveu-lhe as modalidades nucleares 1907); 2) *Ent. buccalis* (v. Prowazek 1904); 3) *Ent. coli* Loesch em. Schaudinn (1904); 4) *Ent. histolytica* Schaudinn 1904, (Werner 1908, Hartmann 1909); 5) *Ent. ranarum* Grassi, (Dobell 1908); 6) *Ent. tetragena* Viereck, (Hartmann 1908); 7) *Ent. blattae* Bütschli, (v. Janicki 1909 e 8) *E. testudinis* n. sp.

Na parte final da minha memoria acima citada sobre amebas parazitarias pretendo fazer o estudo comparativo minuciozo de todas estas fórmas indubitaveis.

Novembro de 1909.

Infusor aus Süsswasser auch ein Centriol darin wahrnehmen. Herr Dr. Chagas wird ferner über die neue Art von *Balantidium* aus der Schildkröte und ein zweites neues parasitisches Infusor aus einer Schnecke sehr interessante Beobachtungen für diese Frage mitteilen. Hiernach bin ich überzeugt, dass alle diese Kerntypen sich in der angedeuteten Weise von einfachen Caryosomkernen ableiten lassen, zumal da es sich stets in diesen Fällen um vegetativ stark in Anspruch genommene Kerne handelt.

Die *Entamoeba testudinis* ist, wie aus der obigen Schilderung hervorgeht, eine wohl charakterisierte neue parasitische Art, die ihrem ganzen Bau nach zur Gattung *Entamoeba* gehört, und die Zahl der sicheren Arten derselben auf 7 erhöht. Wohl sind früher sowie auch in den letzten Jahren, besonders von Walker (1908) eine grosse Anzahl von sogenannten parasitären Amoeben beschrieben worden, doch handelte es sich in den meisten Fällen nur um aus Fäces gezüchtete freilebende Amoebenarten mit einfachem Caryosomkern ohne periphere vegetative Chromatin-Zone (Vergl. hierzu Naegler 1909). Als sichere Arten der Gattung *Entamoeba* können bisher nur folgende gelten: 1) *Entamoeba muris* Grassi (die Kernverhältnisse von Wenyon 1907 beschrieben); 2) *Ent. buccalis* (Prowazek 1904); 3) *E. coli* Loesch, em. Schaudinn (1904); 4) *E. histolytica* Schaudinn 1904 (Werner 1908, Hartmann 1909); 5) *E. ranarum*, Grassi (Dobbel 1908): 6) *E. tetragena* Viereck (Hartmann 1908); 7) *E. testudinis* n. sp. und *E. blattae*, Bütschli, (v. Janicki 1909). Im Schlussteil meiner oben erwähnten Abhandlung über parasitische Amoeben gedenke ich eine genauere vergleichende Darstellung aller dieser sicheren Formen zu bringen.

November 1909.

BIBLIOGRAFIA.

Dobell, C. C.	1909	Research on the intest. Protozoa of frogs and toads. Quarterly Journ. Microsc. Science, n. 210, p. 201.
Enriques, Paolo . .	1908	Die Conjugation u. sexuelle Differenzierung der Infusorien. Arch. f. Protistenkunde. Bd. XII, p. 213.
Hartmann, M. . . .	1908	Eine neue Dysenterieamoebe, Entamoeba tetragena. (Viereck) syn. Entamoeba africana (Hartmann). Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene, suppl., p. 117.
Hartmann, M. . . .	1908	Untersuch. über paras. Amoeben. I. Teil. Arch. f. Protistenkunde (in Druck).
Hartmann, M. & Prowazeh, S. v.	1907	Blepharoplast, Caryosom u. Centrosom. Arch. f. Protistenkunde. Bd. 10, p. 306.
Janicki, C.	1909	Ueber Kern u. Kernteilung von Entamoeba blattae, Buetschli. Biol. Centralbl. Bd. 29. No. 12, p. 381.
Naegler, K.	1909	Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amoeben. Arch. f. Protistenkunde. Bd. 15, p. 1.
Prowazek, S. v. . .	1904	Entamoeba buccalis. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt, p. 42.
Prowazek, S. v. . .	1909	Formdimorphismus bei ciliaten Infusorien. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, fac. II, p. 105.
Schaudinn, F. . . .	1903	Untersuchungen über die Fortpf. einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt. Bd. XIX, p. 547.
Schubotz, H. . . .	1905	Beiträge zur Kenntniss der Amoeba blattae u. Amoeba proteus. Arch. f. Protistenkunde. Bd. 6, p. 1.
Walker, E. L. . . .	1908	The parasitic amoebae of the intest. tract of man and other animals. Journ. Med. Research. Vol. 17, p. 379.
Wenyon, C. M. . . .	1907	Observ. on the Protozoa in the Intestine of Mice. Arch. f. Protistenkunde. Suppl. I, p. 169.

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 1.

As figuras 1 e 2 estão aumentadas de cerca 900 vezes (dezenhadas com o aparelho Abbe, ao nivel da meza, com Obj. apocrom. Zeiss, 2 mm. e Oc. comp. 4). As figuras 3 a 9 estão aumentadas de cerca 1.600 vezes (Obj. apocrom. Zeiss 2 mm. e Oc. com. 8).

Fig. 1. — *Entamoeba testudinis* dezenhada do vivo.

Fig. 2. — It. fixada pelo sublimado-alcool e córada pela hematoxilina férrea de Heidenhain.

Fig. 3-8.— Nucleos da ameba, em preparados fixados e córados e em que se vêm as variações ciclicas do cariozoma.

Fig. 9. — Nucleo com dous cariozomas, provavelmente estádio final de mitoze cariozomica intra-nuclear.

ERKLÄRUNG DER TAFEL 1.

Die Vergroesserung beträgt bei den Fig. 1 und 2 circa 900 mal (entworfen mit dem Abbe'schen Zeichenapparat auf dem Arbeitstisch bei Zeiss Apochr. Obj. 2mm und Comp. Oc. 4), bei den Fig. 3 bis 9 circa 1600fach (Zeiss Apochr. Obj. 2mm. und Comp. Oc. 8).

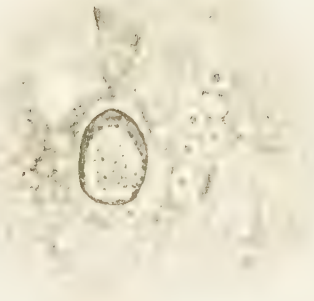
Fig 1. — *Entamoeba testudinis* nach dem Leben.

Fig. 2. — Amoebe nach mit Subl. Alk. fixierten und mit Eisenhaematoxylin nach Heidenhaim gefaerbten Praeparat.

Fig. 3-8. — Kerne von Amoeben nach fixierten und gefaerbten Praeparaten, zyklische Veraenderungen am Caryosom zeigend.

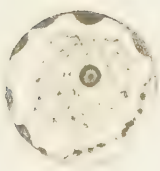
Fig. 9. — Kern mit 2 Caryosomen, vermutlich Endstadium einer intranucleaeren Caryosommitose.

1



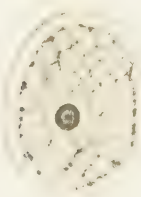
2

3

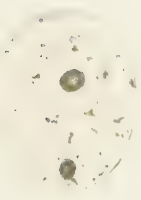


4

5

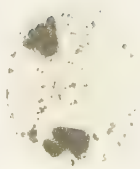


6



7

8



9

CASTRO SILVA DEL.

Nova vacina contra o carbunculo sintomatico.

PELO

Dr. A. Godoy,

Assistente.

(1 Figura no texto.)

Un nouveau vaccin contre le charbon symptomatique.

PAR LE

Dr. A. Godoy,

Assistant.

(1 Figure dans le texte.)

Os estudos sobre o carbunculo sintomatico feitos nestes ultimos decenios não alteraram de modo algum os processos de vacinação contra esta zoonoze. O processo ARLOING-CORNEVIN (1887) continúa, quazi que unico, a ser praticado por não terem os estudos de laboratorio conseguido metodo algum capaz de substituil-o. Não faltaram, porem, tentativas como a de LECLAINCHE e VALLÉE (1902) de imunizar por meio de culturas aquecidas e soro-especifico e a de GRASSBERGER e SCHATTENFROH (1904) que, depois de longas e interessantes pesquizas, têm grandes acidentes com a imunização por meio das misturas de toxina-antitoxina.

Iniciámos o estudo deste assunto pelo interesse que merece, especialmente no ponto de vista economico, pois, o Estado de Minas e outros são em quazi totalidade contaminados pelo carbunculo sintomatico que nelles toma denominações diversas — peste da manqueira, quarto inchado, mal de ano, etc. O processo de vacinação com as vacinas pulverulentas havia-se mostrado aqui, como em toda parte, ou demaziado ativo e dava cazos mortais por ocazião da vacinação, ou demaziado escasso e então durante a epoca epidemica morriam alguns vitelos vacinados.

Apezar disso a perda percentual devida ás falhas acima referidas era menor

Les études sur le charbon symptomatique qui ont été faites ces dix dernières années n'ont pas changé les procédés de vaccination employés contre cette épizootie. C'est encore le procédé d'ARLOING et CORNEVIN (1887) celui qu'on emploie le plus, et les études de laboratoire n'avaient pas abouti jusqu'à présent à une meilleure méthode. En effet, il y a eu les essais de LECLAINCHE et VALLÉE (1902) d'immunisation au moyen d'inoculations de cultures chauffées et de sérum spécifique, et ceux de GRASSBERGER et SCHATTENFROH (1904) avec les mélanges de toxine et antitoxine qui, employées comme méthode immunisante après de longues et intéressantes études ont été cause d'acccidents.

Nous avons entrepris des études sur ce sujet, surtout à cause du grand intérêt économique qu'il a pour nous, au Brésil, où des États, comme Minas et autres, ont presque toutes les régions contaminées par le charbon symptomatique qui y est connu sous différentes dénominations : *peste da manqueira*, *quarto inchado*, *mal de ano*, etc. Chez nous, comme ailleurs, les vaccins représentés par les poudres desséchées ont été ou trop virulents, donnant quelques cas de mort après inoculation, ou pas assez actifs et n'immunisant pas, d'une manière sûre ; on voyat alors mourir aux époques épizootiques quelques animaux vaccinés.

que a que se daria com quaisquer dos processos substitutivos até então experimentados.

A soro-vacinação, que não seria senão um recurso, é o metodo que, segundo Leclainche e Vallée, se deve preferir.

No estudo deste assunto, duas questões nos preocupamos especialmente de conhecer — o rezultado da inoculação de dozes conhecidas de suco de musculo dessecado e as propriedades das culturas obtidas com amostras que izolassemos de cazos de infeção natural que observassemos em Minas.

Os estudos feitos, referentes a estas questões, assim como a outras que a ellas se relacionam se acham expostos nos diferentes trabalhos já publicados dos Dr. Rocha Lima (1906); Dr. Gomes de Faria e o autor (1907); Dr. Gomes de Faria (1908) e do autor (1909).

As diversas porções de suco de musculo seco que obtivemos, e que haviam sido preparadas como uzualmente se faz na preparação das vacinas pulverulentas, mostraram-se aos ensaios de cultura extraordinariamente impuras. Em regra, não se saberia reconhecer a prezença do bacilo do carbunculo sintomatico nas culturas com elles feitas, mesmo apoz o previo aquecimento desses materiais. Os anaerobios obrigatorios ou facultativos, que aí se acham, subjugam de muito a este na vejetação.

A inoculação, porem, dá lezões que se assemelham ás do carbunculo sintomatico.

A dozajem do valor infeciozo dos pós virulentos por meio das culturas se nos afigurando, assim, impossivel, fizemos tentativas da sua dozajem em cobaias e em vitelos. Para demonstração dos rezultados obtidos damos a seguir o rezumo, em forma de quadro, de uma serie de inoculações em cobaias do material pulverulento orijinario do vitelo 9 (Quadro 1). Para que a doze de inoculação fosse exatamente conhecida dozavamos o reziduo seco de 2. c. c. de emulsão concentrada e livre de grumos, do material, em agua distilada. Avaliavamos então a diluição que se havía de fazer para que

En tout cas, les pertes observées avec l'emploi de ces vaccins pulvérulents étaient toujours moindres que celles qu'on aurait eu en employant un des autres procédés présentés pour les remplacer.

La sérum-vaccination, qui ne serait qu'une ressource de moment, est, selon Leclainche et Vallée la méthode de choix.

Dans nos études nous avons tâché de connaître les résultats d'inoculation de doses connues de suc musculaire desséché et virulent et les propriétés des cultures des échantillons de bacilles isolés des cas d'infection naturelle observés à Minas.

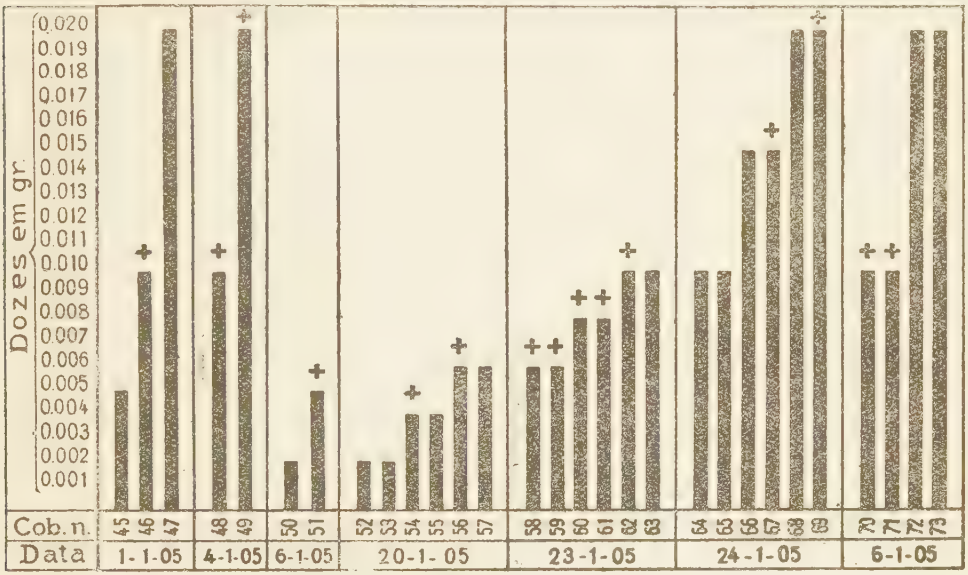
Les résultats de ces études ainsi que quelques autres, faits sur ce même sujet ont été dejà publiés par Rocha Lima (1906); Gomes de Faria et nous (1907) et par nous (1909).

Les essais de culture que nous avons fait sur les différents échantillons de suc musculaire desséché, selon la technique employée à la confection des vaccins en poudre ont montré l'extraordinaire contamination de ce matériel. En règle générale dans ces cultures on ne peut pas caractériser le bacille du charbon symptomatique, même si on avait auparavant chauffé le matériel, les anaérobes facultatifs ou obrigés empêchant la végétation du bacille du charbon bactérien. L'inoculation, cependant, du matériel produit des lésions analogues à celles du charbon symptomatique.

Ayant été ainsi démontré qu'il n'est pas possible d'avoir, au moyen du procédé des cultures une idée sur le pouvoir infectant des poudres virulentes, nous avons essayé le dosage du produit au moyen d'inoculations à des cobayes et à des veaux. Pour démontrer les résultats obtenus nous résumons au tableau 1 une série d'inoculations à des cobayes de la poudre virulente préparée avec les muscles du veau n. 9 (Tableau 1). Pour bien connaître avec exactitude la dose inoculée nous faisions une émulsion concentrée et sans grumeaux du matériel dans de l'eau distillée, et nous dosions le résidu sec de 2 cc. de cette émulsion. Avec les données ainsi obtenues nous agissions de manière à avoir dans un vo-

em 3 c. c. de injeção tivessemos a doze que dezejavamos inocular. A emulsão concentrada era conservada na geleira até o momento de se fazer a diluição.

lume de 3cc. la dose que nous voulions inoculer. L'émulsion concentrée était conservée à la glacière jusq'au moment de s'en servir pour faire les dilutions.



Quadro 1

Como se vê a morte de algumas cobaias já se dá com a inoculação de 4 miligramas, ao passo que outras rezistem a 20 miligramas, sem havermos ainda atinjido a doze seguramente mortal.

Em bóvidas o mesmo se dá.

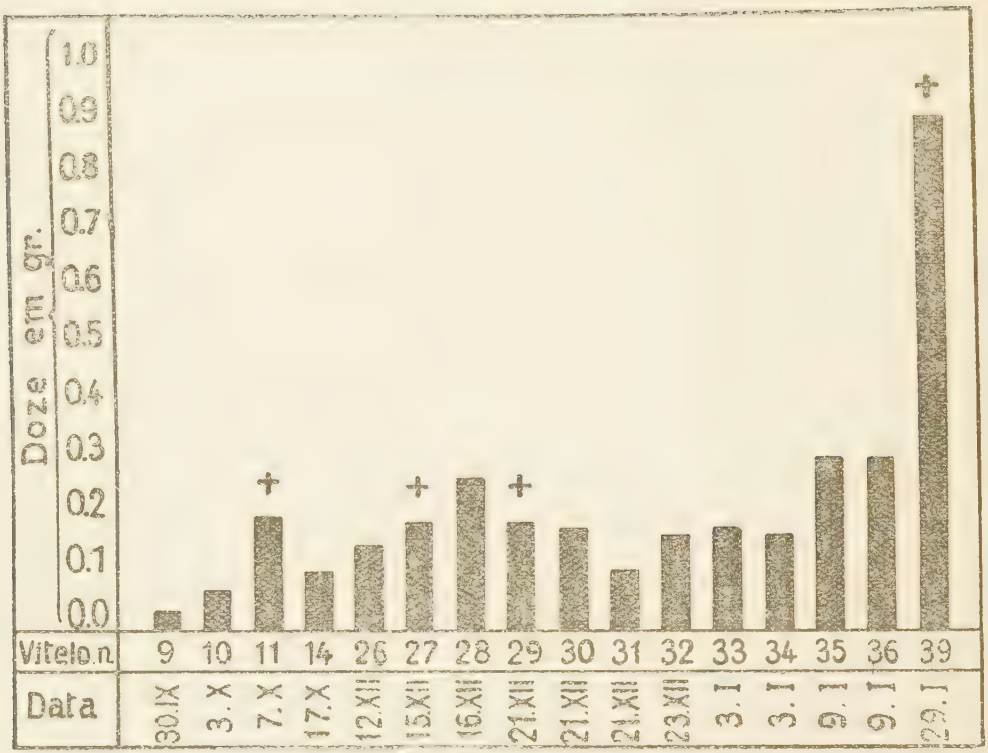
Da experiencia adiante rezumida no quadro 2 rezulta que não se póde com segurança determinar a doze minima mortal de um material infeciozo, ou, cazo isto se possa fazer ella se achará muito afastada da que já começa a ser ativa. Assim, 18 centigramas de suco de musculo do vitelo 1 mostraram-se capazes de produzir a morte quando inoculados em trez vitelos e inocuos em outros tres. Nada sofreram, porem, dois vitelos que foram inoculados com 30 centigramas.

On voit d'après ce tableau qu'il y a des cobayes qui succombent déjà avec une dose de 4 milligr., à côté d'autres qui résistent jusqu'à 20 milligr. et, encore, nous n'avons pas atteint la dose sûrement mortelle.

Chez les bovidées on constate les mêmes faits :

D'après les renseignements fournis par le tableau 2 on voit qu'on ne peut pas établir d'une manière sûre la dose minima mortelle d'un matériel infectieux, ou, quand cela est possible, cette dose se trouve encore très loin de celle qui commence à être active.

Ainsi, 18 centigr. du suc musculaire du veau n. 1 se sont montrés capables de donner la mort à trois veaux et dans les mêmes conditions n'ont rien produit sur trois autres animaux. Deus autres veaux n'ont rien souffert de l'inoculation de 30 centigr. du même matériel.



Quadro 2

Outros materiais pulverulentos empregados não se mostraram mais ativos, assim :

Material. Vitelo N.	Doze em grs.	N. do vitelo inoculado.	Rezultado.
6–7	0 1	8	não deu reação
1–40	1.0	44	it.
it.	it.	45	it.
40	0,3	42	it.
it.	1.0	43	morte em 36 h.
27–39	0.5	46	não deu reação
it.	1.0	47	it.
52	0.5	53	morte em 40 h.
53	0.5	43	it.

Não deve cauzar extranheza o fato de serem necessarias dózes tão grandes para cauzar a infeção, pois em regra os animais foram autopsiados logo apoz a morte, não havendo portanto a formação de esporos que pudessem rezistir ao dessecamento, sinão em pequena quantidade.

D'autres produits virulents ne se sont pas montrés plus actifs ; ainsi :

Matériel. Veau N.	Dose en grs.	N. du veau inoculé.	Résultat.
6–7	0.1	8	pas de réaction
1–40	1.0	44	it.
it.	it.	45	it.
40	0.3	42	it.
it.	1.0	43	mort en 36 h.
27–39	0.5	46	pas de réaction
it.	1.0	47	it.
52	0.5	53	mort en 40 h.
53	0.5	43	it.

On ne doit pas s'étonner de la grandeur des doses qu'il faut inoculer pour donner l'infection, puisque les animaux fournisseurs du matériel ont été autopsiés aussitôt après la mort et il n'y avait pas, alors, de temps suffisant que pour la formation d'un très petit nombre de spores, qui étaient les seuls à résister au desséchement.

O suco de musculo tal como se obtem antes de qualquer tratamento é muito mais ativo. De musculos recebidos de Minas obtivemos um suco que matava na doze de 1 c. c. o vitelo 2 ; o suco de musculo do vitelo 40 cauza forte reação no vitelo 42 já previamente vacinado. Porem ainda aqui se observam exceções.

As culturas puras em plena vejetação dão rezultados incertos ; porem, o mesmo não acontece com as culturas apoz o completo dezenvolvimento em que os rezultados são regulares e proporcionais á quantidade de esporos que contêm, como se vê no quadro 3.

Quadro 3

CULTURAS	MEIO EMPREGADO	N. DE ESPÓROS POR CC.	REZULTADO DE INOCULAÇÃO Á COBAIA
A	Caldo glicozado e sôro ⅓.	120	Inoculação de 3 cc. Rezistiu, sem reação local.
B	It.	24	It.
C	It.	30	It.
D	Caldo simples e sôro ⅓.	863.000	Inoculação de 3 cc. Morte em 48 h. por carbunculo tipico.
E	It.	113.000	It.
F	It.	250 000	Inoculação de 2 cc. Morte em 48 h. por carbunculo tipico.

E' de esperar que o mesmo se obtenha em vitelos, como já o indicam as inoculações que adiante referiremos.

As experiencias referidas mostram que ha maiores diferenças entre os materiais inoculados que variação na rezistencia dos animais injetados. Seriam, naturalmente, ainda maiores as diferenças de rezultados das inoculações quando se pretendesse do-

Le suc musculaire en nature avant un traitement quelconque est bien plus actif.

Nous avons obtenu avec des muscles charbonneux envoyés de Minas un suc actif qui a tué à la dose de 1cc. le veau n. 2 : le suc musculaire du veau n. 40 a produit une très forte réaction sur le veau n. 42, qui était déjà vacciné. Il y a ici encore des exceptions.

Les cultures pures en pleine période végétative fournissent des résultats très incertains, mais quand le développement est complet les résultats sont très réguliers et proportionnels à la quantité de spores qu'elles contiennent comme on peut se rendre compte d'après le Tableau 3.

Tableau 3

CULTURES	MILIEU EMPLOYÉ.	N. DE SPORES PAR CC.	RÉSULTAT DE L'INOCULATION AU COBAYE.
A	Bouillon glycosé et sérum ⅓	120	Inoculation de 3 cc. Survie, sans réaction locale.
B	It.	24	It.
C	It.	30	It.
D	Bouillon simples et sérum ⅓	863.000	Inoculation de 3 cc. Mort en 48 h. par charbon typique.
E	It.	113.000	It.
F	It.	250.000	Inoculation de 2 cc Mort en 48 h. par charbon typique.

On peut s'attendre à ce que le mème résultat puisse être obtenu sur les veaux, comme d'ailleurs, laissent voir les résultats des inoculations que nous montrerons ci après.

Nos expériences montrent qu'il y a une plus grande différence parmi les matériaux virulents qu'il y a de variations de résistence chez les animaux inoculés.

Les différences des résultats d'inoculation seraient encore plus grandes quand on

zar materiais em que os esporos estivessem englobados por substancias tornadas insoluveis pelo calor, como na pratica da fabricação das vacinas pulverulentas. No cazo habitual dessa fabricação considera-se, em regra, como tendo os diferentes sucos de musculo o mesmo valor.

Si estas considerações vizassem de qualquer modo concluir pela dificuldade de se obter um produto vacinante, com razão se nos apontaria para as estatisticas que demonstram a eficacia deste modo de vacinação, mas, o que queremos é demonstrar que é extraordinariamente facil de se conseguir a imunidade no carbunculo sintomatico. E', de resto, prova disto o sucesso das inoculações de produtos os mais variados, de estados fizicos tão diferentes e por vias as mais diversas. Não faltam processos, porem elles são inconstantes e alguns de dificil pratica. Uma molestia de tão facil imunização não deve continuar a ser prevenida com vacinas só toleraveis no inicio da epoca bacteriolojica.

No estudo da imunização contra o carbunculo sintomatico perdeu-se completamente de vista a inoculação de germens mortos que se faz por ocazião da inoculação das diferentes vacinas onde elles são de milhares contra as centenas de esporos que ellas contem. Já Kitasato (1889) havia observado que culturas antigas e completamente inativas imunizam. Ora, nessas, dado o meio em que eram feitas, se póde concluir que estavam quazi todos os germens, que continham, mortos.

Esta ideia que é apenas sujerida como explicação para a atividade de processos tão heterojenios é amplamente demonstrada pelas inoculações das culturas vacinantes onde não se póde pensar numa imunidade obtida a custa de uma infeção benigna inicial, visto a pequenissima quantidade de esporos inoculados, dezenas, assim como por não poderem essas inoculações serem tornadas mais ativas pela adição de acido latico e outras substancias quimiotaticas

aurait à doser des matériaux dans lesquels les spores seraient englobés par des produits devenus insolubles par la chaleur, comme c'est le cas dans la pratique de la fabrication des vaccins pulvérulents. D'habitude on considère, dans la confection de ces vaccins, tous les sucs musculaires comme ayant la même valeur.

Si par ces considérations nous voudrions démontrer la difficulté qu'on a d'avoir un vaccin, on n'aurait pas de difficulté à prouver le contraire au moyen des statistiques favorables qui démontrent l'efficacité du vaccin préparé par ce procédé. Mais, ce que nous voulons démontrer c'est qu'il est très aisé de donner l'immunité contre le charbon symptomatique. Du reste, on trouve la confirmation de cette assertion dans le succès des immunisations faites avec les produits les plus différents, d'état physique divers et administrés par des voies si variées.

Il y a beaucoup de procédés, mais ils sont d'action inconstante, les uns de difficile application et préparés selon une technique très primitive. Une maladie contre laquelle on peut immuniser avec une si grande facilité ne doit pas être combattue au moyen de vaccins dont l'existence ne pourrait être tolérée qu'au commencement de l'époque bactériologique.

Dans les études sur les vaccins employés contre le charbon symptomatique on a fait, jusqu'à présent, abstraction des corps microbiens morts, qui se comptent par milliers à côté des centaines de spores qu'on inocule. Kitasato (1889) avait dejà observé que les vieilles cultures tout à fait dépourvues de virulence peuvent immuniser. Dans ces cultures, vû le milieu où elles étaient faites, on peut considérer comme morts tous les germes qu'elles contenaient.

Cette idée qui nous est venue seulement pour expliquer l'activité de vaccins préparés selon de procédés si hétérogènes est tout à fait démontrée par l'inoculation de cultures vaccinantes qui confèrent l'immunité sans qu'on puisse attribuer celle-ci à une atteinte legère par la maladie ou à la petite quantité de spores inoculés — quel-

negativas. Estas culturas quando inoculadas, mesmo em pequenas dozes (1/2 c. c.), imunizam.

Daremos aqui apenas algumas indicações sobre a morfolojia e biolojia em que estamos de acordo com KITT (1902) e HIBLER (1899).

O aspeto das culturas em gelatina que observamos é de pequenas colonias de limites bem nitidos, brancas e que com o dezenvolvimento vão fluidificando o meio. Em agar-soro, — a adição de soro é o unico meio de se obter culturas em agar com a nossa amostra, — a forma varia com a concentração do meio, de modo que com uma concentração correspondente a 1 % de agar se obtem um aspeto que consideramos carateristico — as colonias são grandes, nebulozas, perfeitamente esfericas, de contornos bem definidos e sem a menor aparencia de filamentos. O centro da colonia é marcado por um ponto mais escuro. As culturas em meios liquidos nada mostram de diferente do já conhecido. A variedade de aspeto dos elementos que aparecem nas culturas corresponde ao já descritos por HIBLER e SCHATTENFROH.

A amostra que izolámos possue no mais alto gráo a propriedade de formar granuloze em meios glicozados. Quando a cultura está em plena vejetação aí são abundantes as formas em fuzo, esfericas e todas as variantes possiveis entre essas duas extremas. Diferimos, porem, completamente de HIBLER em não considerar a auzencia de esporos nos meios glicozados como devido a acidez do meio, isto, porque, nem a neutralização dos acidos formados, pela adição de carbonato de calcio ao meio de cultura, como pelo fato de uma maior alcalinidade do meio não evitar a ação impedidora que a glicoze e outros assucares exercem sobre a formação de esporos. A formação de esporos foi em identicas condições sempre menor com a nossa amostra que com duas outras com que trabalhámos, uma de KITT, de Munich e outra que izolámos de uma pó virulento de orijem suissa

ques dizaines — ainsi que par le fait qu'on ne peut pas rendre plus actives ces inoculations au moyen de l'acide lactique, ou d'autres substances chimiotactiques négatives. Ces cultures immunisent même inoculées en petites doses (1/2 cc.)

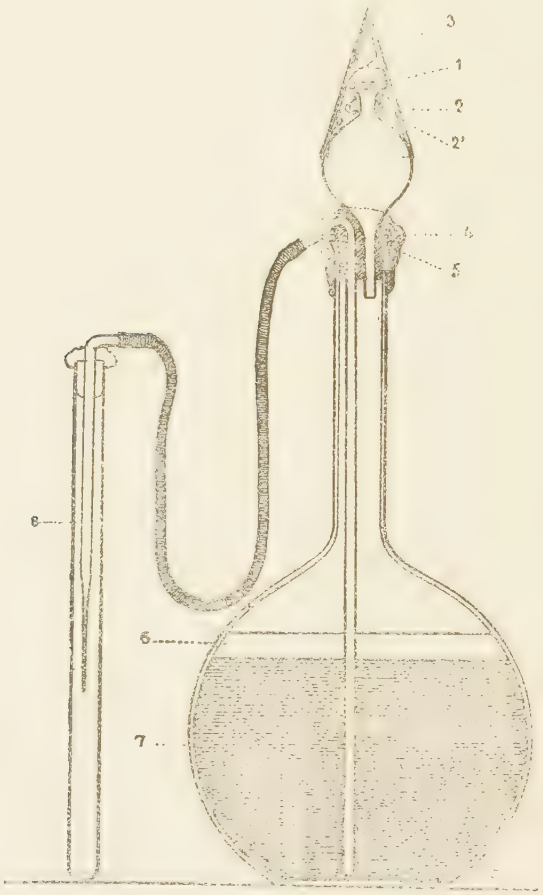
Nous passons à donner quelques indications sur la morphologie et biologie du bac. du charbon symptomatique en ce que nous sommes, en général, d'accord avec KITT (1902) et HIBLER (1899).

Les cultures en gélatine se font sous l'aspect de petites colonies, à contours nets, blanches et qui, au bout de quelque temps fluidifient le milieu. En agar-sérum — l'addition du sérum est le seul moyen de faire végéter notre échantillon sur agar — la forme de la colonie varie selon la concentration de la gelée ; avec une consistence qui correspond a 1 % d'agar nous avons des colonies qui ont un aspect que nous considérons caractéristique. Elles sont grandes, nébuleuses, parfaitement sphériques, à contours bien nets, sans filaments. La partie centrale de la colonie est marquée par un noyau plus foncé. Les cultures en milieux liquides ne diffèrent en rien de ce qui est déjà connu pour ce microbe. Les différences morphologiques des unités microbiennes dans les cultures sont bien celles qui ont été déjà signalées par HIBLER et SCHATTENFROH.

L'échantillon que nous avons isolé possède au plus haut degré la propriété de produire granulose dans les milieux glycosés. Dans les cultures bien développées on voit les formes en fuseau à côté des formes sphériques avec toutes les intermédiaires entre ces deux formes extrêmes. Nous ne sommes, cependant, point d'accord avec HIBLER en ce qui concerne la manière de considérer l'absence de spores dans les milieux glycosés comme étant due à l'acidité du milieu et cela parcequ'il n'est pas possible d'arrêter cette action empêchante de la glycose et d'autres sucres sur la formation des spores, si on neutralise par le carbonate de soude les acides formés ou si on emploie un milieu plus alcalin. Toutes choses égales d'ailleurs, la production de

que devemos á amabilidade do Dr. Carini. O que dissemos a respeito dos esporos podemos dizer quanto a virulencia das culturas, assim em um dos ensaios a cultura Kitt matava cobaias na doze de $^1/_{1000}$ cc., ao passo que a nossa não matava sinão a $^1/_2$ de c. c. As culturas da nossa em meio glicozado foram sempre avirulentas, não se dando o mesmo com as outras.

spores a été moindre avec notre échantillon qu'avec celles de Kitt de Munich, et d'une autre de provenance suisse que nous avons reussi à isoler d'une poudre virulente qui nous a été aimablement fournie par M. le Dr. Carini. Ce que nous avons dit sur la production des spores peut être appliqué à la virulence des cultures. Ainsi l'échantillon Kitt tuait le cobaye à la dose



Balão para preparo e distribuição de vacina.

1. Camada de algodão.
2, 2 a. Duplo revestimento de papel.
3. Cartucho de papel.
4. Camada de algodão que proteje a rolha.
5. Rolha de borracha.
6. Camada de vazelina liquida.
7. Trocarte para entrada de sôro e distribuição da cultura.

Balion disposé pour la préparation et distribution du vaccin.

1. Couche d'ouate.
2, 2 a. Double couche de papier.
3. Cornet en papier.
4. Couche d'ouate protégeant le bouchon.
5. Bouchon en caoutchouc.
6. Vaséline liquide.
7. Trocart. (Entrée du sérum et distribution de la culture).

As culturas destinadas a vacinação são preparadas em balões de 2 litros em que se coloca 1 litro de caldo de carne com 2 % de glicoze, adiciona-se parafina liquida até que se forme uma camada de cerca de 2 cm. de altura sobre o meio de cultura. Quando resfriado, ajunta-se 1/3 ou 1/2 litro de soro de cavalo. Um dispozitivo muito pratico e seguro para essa adição de soro, assim como para a sementeira dos balões é o reprezentado pela figura acima, cuja descrição minucioza e funcionamento se encontram no trabalho de Gomes Faria (1908); a figura, entretanto, é assaz clara e permite a sua compreensão.

E' fóra de duvida que as culturas em meio glicozado-soro imunizam. Damos a seguir as primeiras inoculações que fizemos e que serviram de base á pratica da vacinação em grande:

Quadro 4

N. do vitelo	Quantidade de cultura vacinante inoculada em c. c.	Prova	Numero de dias decorridos entre a vac. e a prova
3	2.0	5.0 c. c. de cultura em caldo sangue.....	15 dias
5	5.0	2 c. c. de cultura em caldo sangue.....	30 dias
15	0.5	2 c. c. suco de musculo em natureza do vitelo 40....	7 mezes
16	0.5	1 gr. material seco vit. 1-40	90 dias
17	0.5	1 gr. material seco vitelo 1..	70 dias
18	2.0	1 gr. material seco vitelo 1..	72 dias
19	2.0	2 c. c. suco de musculo em natureza do vitelo 40....	3 mezes
20	2.0	1 gr. material seco vit. 1-40	3 1/2 m.
22	3.0	2 c. c. suco de musculo em natureza do vitelo 40...	3 mezes
23	5.0	1 gr. material seco vitelo 1..	2 mezes
24	15.0	1 gr. material seco vitelo 1..	2 mezes
55	10.0	2 c. c. de cultura em caldo sangue mais acido latico	50 dias
56	10.0	2 c. c. de cultura em caldo sangue mais acido latico	49 dias

Temos a fazer notar que a não ser o vitelo 22 nenhum outro teve a menor reação, sendo que o material com que foi inoculado

de $^1/_{1000}$ cc., et la nôtre ne le faisait qu'à la dose de $^1/_2$ cc. Nos cultures sur milieux glycosés ont été toujours avirulentes ce qui n'arrivait pas avec les autres échantillons.

Nous préparons notre vaccin en semant 1 litre de bouillon de viande glycosé à 2 %, placé dans un ballon de 2 litres. On verse sur le milieu de culture une couche de 2cm. de parafine liquide et après stérilisation et refroidissement on ajoute $^1/_3$ ou $^1/_2$ de sérum stérile de cheval. Pour faciliter l'addition du sérum et pour faire les ensemencements nous employons le dispositif figuré par le dessin ci-dessus, dont la description et le fonctionnement se trouvent dans le travail de Gomes de Faria (1908).

C'est incontestable que les cultures du bac. du charbon symptomatique en bouillon-sérum glycosé immunisent. Le tableau qui suit donne une idée de quelques résultats obtenus au laboratoire et qui ont servi de base pour les vaccinations en grand.

Tableau 4.

Veaux N.°	Quantité de culture inoculée en cc.	Inoculation d'épreuve	Nombre de jours entre la vaccination et l'inoculation d'épreuve
3	2.0	5cc. de culture en bouillon-sang.....	15
5	5.0	2cc. it.....	30
15	0 5	2cc. de suc de muscle du veau n° 40.....	210
16	0.5	1 gr. matériel sec des veaux—1-40.....	90
17	0.5	1 gr. m. sec veau 1.....	70
18	2.0	id.....	72
19	2.0	2 cc. suc muscle v. 40..	90
20	2.0	1 gr. mat. sec v. 1-40..	105
22	3.0	2 cc. suc musculaire veau 40.....	90
23	5.0	1 gr. mat. sec v. 1....	60
24	15.0	id.....	60
55	10.0	2 cc. culture bouillon-sang additionés d'acide lactique.....	50
56	10.0	id.....	49

Il n'y a que le veau n. 22 qui ait eu une réaction, les autres n'ont rien eu. Le matériel qui a été inoculé au veau n. 3 a

culato o 3 matou, inoculado na mesma ocazião e doze, o vitelo 2 ; a cultura inoculada no 5 tambem matou em identicas condições o 6 e 7 ; as culturas que inoculámos no 55 e 56 eram muito ricas em esporos. Alguns vitelos (17, 18, 23 e 24) foram inoculados com o material 1, do qual já tratámos no quadro n. 2.

Fizemos por essa ocazião a vacinação na fazenda do Dr. Villaça, em Juiz de Fora e todos os vitelos assim tratados rezistiram, não só á infeção natural, como á inoculação de prova. Mais tarde tivemos, em 24 vitelos vacinados, 8 mortes. Esse acidente veio esclarecer definitivamente o problema da vacinação e mostrar que vacinas que são inocuas para cobaias não garantem a auzencia de cazos por ocazião da vacinação. Estas culturas que se mostraram ricas em esporos não eram, porem, quando inoculadas em cobaias, mortais para ellas, ou, em outras palavras, a doze minima mortal para os vitelos póde estar abaixo da doze mortal minima para a cobaia.

Como consequencia passámos a dozar as nossas culturas vacinantes pela contajem do numero de esporos em 1/2 c. c., isto é, 1/4 da doze que inoculamos como vacina. Para esta dozajem ajuntámos 0.5 de centimetro cubico da vacina a 6—8 de soro de cavalo, esta mistura é feita em um tubo de ensaio, no qual se adiciona finalmente a quantidade de agar glicozado para que o tubo fique quazi cheio, ajita-se bem, e, quando gelificado, coloca-se na estufa a 37°. No 2.° dia as colonias podem ser contadas e não devem exceder de 200, porem é, somente, na maioria das vezes, de apenas algumas dezenas.

A pratica de milhares de inoculações mostrou que uma só inoculação é suficiente para conferir a imunidade durante todo o tempo em que são os animais habitualmente atacados. A conservação das propriedades destas culturas tem se mostrado muito longa. Nos frascos fechados á lampada, como é fornecida, é de muitos mezes.

Na falta de estatistica regular apre-

tué dans les mêmes conditions le témoin n. 2.

La culture inoculée au veau n. 5 a tué les témoins ns. 6 et 7 ; les cultures inoculées aux animaux n. 55 et 56 étaient très riches en spores.

Quelques veaux (ns. 17, 18, 23 et 24) ont été inoculés avec le matériel 1 dont nous avons parlé au tableau n. 2.

Nous avons essayé le vaccin en grand, à la ferme de Mr. le Dr. Villaça, à Juiz de Fóra où tous les animaux immunisés ont résisté à l'infection naturelle et à une inoculation d'épreuve.

Plus tard dans un autre essai nous avons eu 8 morts parmi 24 veaux vaccinés.

Cet accident est venu résoudre d'une façon définitive le problème du vaccin et nous a montré que le vaccin non virulent pour le cobaye peut donner des cas parmi les veaux et ainsi nous avons vérifié que la dose minima mortelle pour les veaux est au dessous de la dose minima mortelle pour les cobayes.

Nous avons alors dosé notre vaccin en faisant la numération des spores dans 1/2 cc. de vaccin, c'est à dire dans le quart de la dose vaccinante. Pour faire cela nous ajoutons à 0,5 cc. de vaccin 6 à 8 cc. de sérum stérile de cheval. Ce mélange est fait dans un tube d'essai dans lequel on verse après, la quantité d'agar-glycosé suffisante pour le remplir à peu près. On agite le tout et on laisse prendre le milieu qui est, alors placé à l'étuve à 37° C. Au deuxième jour on fait la numération des colonies, qui ne doivent pas surpasser le numéro 200. À la majorité des cas il n'y en a même que quelques dizaines.

La pratique de nombreuses, vaccinations a démontré qu'une seule inoculation est suffisante pour immuniser les animaux pendant le temps qu'ils ont plus de receptivité. Le vaccin se conserve assez longtemps ; pendant beaucoup de mois il se conserve actif dans les flacons fermés à la lampe, où il est fourni. En défaut d'une statistique nous présentons ci-dessous les nombres

sentamos o numero de dozes progressivamente crecente fornecidas pelo Instituto:

Em 1906	11.780
» 1907	47.700
» 1908	71.895
» 1909	188.970
Total	320.345

Não se trata, pois, de um processo em ensaio, mas de um que merece ser propagado e vir a substituir os processos empiricos até hoje em uzo.

toujours croissants des doses de vaccin fournis par notre Institut:

1906	11.780
1907	47.700
1908	71.895
1909	188.970
Total	320.345

On voit par ce que nous venons d'exposer qu'il ne s'agit point d'un procédé d'essai, mais d'une méthode qui doit remplacer les procédés empiriques en usage jusqu'à présent.

BIBLIOGRAFIA.

Arloing, Cornevin et Thomas	1887	Le charbon symptomatique du boeuf.
Godoy (Dr. A.) . . .	1909	Sobre a peste da manqueira. — A Lavoura, Ano XIII. N. 10, pag. 293.
Godoy (Dr. A.) e Gomes de Faria (Dr.) . .	—	Sobre um novo processo de vaccinação contra o carbunculo symptomatico. Memoria aprezentada ao Sexto Congresso Brazileiro de Medicina e Cirurgia — *in* Revista Medica de S. Paulo, Ano XI, N. 16, pag. 338.
Gomes de Faria (Dr.) .	1908	Contribuição ao estudo do carbunculo symptomatico. — Dissertação inaugural.
Grassberger (R.) u. Schattenfroh (A.)	1904	Ueber Buttersäuregärung. (III Abhandlung.) etc. — Archiv für Hygiene, Bd. 48, S. 1.
Hibler (E. v.) . . .	1899	Beiträge zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze etc. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. XXV Bd. S. 513.
Ktisato (S.)	1889	Ueber den Rauschbrandbacillus und sein Culturverfahren. Zeitschr. f. Hyg. 6 Bd. S. 105.
Kitt (Prof. Dr. H.) .	1902	Neues über Rauschbrand. Monatshefte f. prakt. Thierheilk. Bd. 13. S. 174.
Leclainche (E.) et Vallée (H.) . . .	1902	Les accidents consécutifs aux vaccinations. Annales de l'Institut Pasteur. T. 6e, pag. 614.
Rocha Lima (Dr. H. da)	1906	Peste de manqueira ou carbunculo symptomatico. Conferencia realisada perante a Sociedade de Medicina e Cirurgia de Juiz de Fóra e publicada no *Pharol* de 5 de Junho de 1906 *in Brazil-Medico*. Ano XX, pag. 246.

Contribuição para a sistematica helmintolojica brazileira. (*)

II

Dicrocoelium infidum n. sp. Parazito da vezicula biliar da Eunectes murina. L.

PELO

Dr. Gomes de Faria.

(Com a Est. 2.)

Contribution towards the classification of brazilian Entozoa. (*)

II

Dicrocoelium infidum, n. sp., parazite of the gall bladder of Eunectes murina. L.

BY

Dr. Gomes de Faria.

(With plate 2)

No correr de estudos, a que procederam, neste Instituto, os Drs. Max Hartmann e Carlos Chagas sobre as hemogregarinas das cobras, muitos destes animais foram sacrificados e cuidadozamente autopsiados. Dentre elles foi examinado um grande exemplar de *Eunectes murina L.* enviado do N. O. do E. de S. Paulo (Brazil) pelo Dr. Arthur Neiva. Acompanhando estas necroscopias, encontramos na vezicula biliar um trematodeo bastante interessante, do qual não pudemos encontrar noticia em toda a literatura o que nos leva a crêr que se trata de nova especie cuja descrição passamos a relatar.

Dicrocoelium infidum n. sp. : — Este parazito foi visto em grande quantidade na vezicula biliar da *Eunectes murina L.* Foram encontrados cerca de 30 exemplares livres na bile ou lijeiramente colados ás

(*) A primeira destas contribuições foi publicada *in* Memorias do Instituto Oswaldo Cruz : Tomo I, fac. 2, pag. 99. Novo parazito etc. *Echinostomum crotophagae* Faria.

Source of material.—Whilst studying snake hemogregarines at our Institute Drs. Max Hartmann and Carlos Chagas had occasion to autopsiate and carefully examine a large number of these reptiles. From the gall bladder of a large specimen of *Eunectes murina,* sent by Dr. Arthur Neiva, from the north-western part of the state of S. Paulo, we collected quite an interesting trematode, which we consider a new species, as we find no reference to this parasite in the papers at our disposal.

Description of the trematode *Dicrocoelium infidum* n. sp.

Abundance of parasite.—We found more or less 30 specimens in the gall bladder either floating in the bile or slightly fastened to the walls of the bladder.

Shape.—Oval in outline and flattened,

(*) The first article was published *in* Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, T. I., Fac. II, pag. 99. *Echinostomum crotophagae* Faria. A New parasite, etc.

paredes deste orgam. Nos *canais biliares* não foram encontrados. Apresentavam-se como pequenos vermes chatos e ovados com a extremidade anterior afilada e a posterior arredondada, brancos com uma mancha parda amarelada no meio do corpo, e muito pouco moveis.

Não podendo estudar imediatamente o material coleccionado fixámos uma parte com liquido de Hoyer, seguindo a technica recomendada por Braun e Lühe (1909), sendo o resto conservado em alcool com as precauções usuais.

Quanto ás dimensões, o maior observado media 3,5 mm. de comprimento e o menor 3,0 mm. A largura orçava em 2,0 mm. chegando até 2,2 mm. Medimos 6 exemplares:

1º Ex.	Comprim.to	3,5mm	Largura maxima		2,0mm
2º »	»	3,5 »	»	»	2,2 »
3º »	»	3,5 »	»	»	2,0 »
4º »	»	3,1 »	»	»	2,1 »
5º »	»	3,0 »	»	»	2,2 »
6º »	»	3,1 »	»	»	2,1 »

As dimensões das ventozas não são muito constantes; tomámos em 2 exemplares os seguintes dados:

Ex. n. 1. — 3,5 mm. de comprimento. Ventoza anterior: Diametro ant. posterior 422 μ; diametro transversal 548 μ Ventoza ventral (circular) 580 μ.

Ex. n. 2. — 3,5 mm. de comprimento. Ventoza anterior: Diametro ant. posterior 464 μ; diametro tranversal 424 μ. Ventoza ventral (circular) 560 μ.

Nesta especie, portanto, a ventoza ventral é sempre um pouco maior que a anterior. A pele é pouco espessa, granulosa, rugosa e distintamente atravessada por linhas curvas, que se estendem ao longo do corpo transversalmente. Na parte posterior é armada de espinhos muito finos e pequenos até o nivel da ventoza ventral, depois torna-se inerme e quazi liza apenas percorrida por estrias transversais.

Ventoza ventral. — Esta ventoza pouco desenvolvida, é circular, séssil, e fica situada para o terço anterior do corpo, ocupando a linha mediana.

with an attenuated cephalic and a bluntly-rounded caudal extremity.

Colour. — White with a yellowish brown spot in the middle of the body.

Movements of the worm —The movements of the trematode are extremely slow.

Condition of material.— Not being able to study at once all the specimens collected, part were kept in Hoyer's liquid, following Braun and Lühe's instructions, and the rest were put up in alcohol.

Measurements—The largest specimen attained 3.5mm. in maximum length, and the smallest 3mm. The maximum breadth varies between 2.0 and 2.2mm.

We measured six specimens:

1st specimen	Max. length	3,5mm	Max. breadth		2,0mm
2nd »	»	3,5 »	»	»	2,2 »
3rd »	»	3,5 »	»	»	2,0 »
4th »	»	3,1 »	»	»	2,1 »
5th »	»	3,0 »	»	»	2,2 »
6th »	»	3,1 »	»	»	2,1 »

The suckers vary also in size:

1st specimen.—3.5mm. in length.

Oral sucker: Maximum length 422 μ.
» breadth 548 μ.
Ventral sucker (round): 580 μ.

2nd specimen.—3.5mm. in length.

Oral sucker: Maximum length 464 μ.
» breadth 424 μ.
Ventral sucker (round): 580 μ.

As we see the ventral sucker is always larger than the oral one.

Surface.—Thin skinned, granulous, wrinkled and crossed by curved lines, which cover the whole length of the body. The caudal extremity is covered with small slender spines until the acetabulum. The surface then becomes almost smooth and crossed by transverse lines.

Ventral sucker:—Round, sessile and not well developed this sucker is situated in the anterior third of the body, occupying the median line.

Digestive tract:—The oral sucker is terminal and almost elliptic, the antero-

Aparelho dijestivo. — A ventoza bucal é terminal, de contorno quazi eliptico; o diametro antero-posterior é menor que o transverso. Provida de fraca musculatura, mostra uma abertura quazi sempre triangular. A' ventoza faz continuação quazi imediata o farinje, pequeno, porem bem dezenvolvido e tendo a forma de tonel. Tomámos as seguintes dimensões em 2 exemplares:

1.º Ex. — 3,5 mm. de comprimento.
Diametro transversal maximo: — 186 μ.
» antero-posterior: — 134 μ

2.º Ex. — 3,5 mm. de comprimento.
Diametro transversal maximo: — 190 μ.
» antero-posterior: — 190 μ.

Ao farinje segue-se o ezofago, tubo longo e fino que se encontra cercado de certo numero de celulas, cuja estrutura pouco pudemos observar.

Depois deste orgam o tubo dijestivo se bifurca para formar os dois cécos. Na sua orijem estes 2 tubos são de calibre bastante estreito, alargando-se logo depois. Estão colocados simetricamente e em paralelismo com as bórdas do corpo, estendendo-se até a extremidade posterior e descrevendo quazi uma elipse. Estão dispostos completamente para dentro das glandulas vitelójenas, circumscrevendo dentro da elipse os testiculos, ovarios, ventoza ventral e quazi todas as ramificações do utero.

Aparelho excretôr. — Este aparelho é pouco dezenvolvido, em grande numero de preparados que examinámos, apenas as porções mais importantes pudemos observar. Em traços rapidos reduz-se a um póro excretor, mediano, posterior, ao qual se segue um pequeno e curto canal, que conduz á *vezicula excretôra* muito pequena e donde saem dois tubos finos, irregulares na trajetoria e no diametro, dirijindo-se para diante, passando entre as glandulas vitelójenas e os cécos e indo terminar ao nivel do farinje. A estes tubos, que se podem estudar perfeitamente, afluem outras pequenas ramificações cuja direção é quazi impossivel acompanhar.

posterior diameter is larger than the transverse one. Provided with weakly-developed muscles the oral sucker has a triangular aperture. Extending caudad from the oral sucker a small, well-developed, barrel-shaped pharynx may be distinguished. Two specimens gave the following measurements in millimeters.

1st specimen.—3.5$^{mm.}$ in length.
Maximum length 134 μ.
» breadth 186 μ.

2nd specimen.—3.5$^{mm.}$ in length.
Maximum length 190 μ.
» breadth 190 μ.

Extending from the pharynx a long narrow esophagus, surrounded by cells, the structure of which we could not describe, can be seen. We observed next the bifurcation into 2 intestinal ceca. Quite narrow at first the ceca increase gradually in diameter. In their course they follow on each side the lateral margins, till near the posterior extremity of the body, describing almost an ellipsis. Bounded externally by the vitellaria the ceca surround the testicles ovary, acetabulum and almost all the ramifications of the uterus.

Excretory tracts.—The excretory system is not well developed. Although we examined a large number of microscopical films we could only describe the most important parts of the system.

In resume, we can say that the system consists in a median posterior excretory pore and a small narrow tract extending till the excretory vesicle, which is very small. Two narrow irregular tubes rise from the vesicle, pass cephalad between the vitellaria and ceca, and terminate at the level of the pharynx. Opening in these tubes small ramifications may be distinguished. We found it quite impossible to accompany the trajectory of these ramifications.

Organs genitais : — O póro genital tem séde adiante da ventoza ventral um pouco para fóra da linha mediana do corpo. O atrio ou seio genital onde se abrem os organs macho e femea não é muito dezenvolvido e de sua textura nada observámos que mereça relação.

Os testiculos em numero de dois, ficam situados ao lado e ao nivel da ventoza ventral. São arredondados, alongados, porém, no sentido antero-posterior e de contorno muito irregular, sobretudo na face voltada para as bordas onde são larga e irregularmente chanfrados, sendo a face interna, que fica em contato com a ventoza ventral mais regular ; em alguns exemplares, completamente plana ou provida apenas de pequenas saliencias e depressões. Estão, em geral, no mesmo plano do corpo e as dimensões dos dois organs variam no mesmo exemplar. As dimensões observadas são :

Ex. de 3,5 mm. de comprimento :

Test. direito : Diametro antero-posterior 584 μ.
Diametro transversal max. 242 μ.
Test. esquerdo : Diametro antero-posterior 528 μ.
Diametro trans. maximo 294 μ.

Ex. de 3,5 mm. de comprimento :

Test. direito : Diametro antero-posterior 670 μ.
Diametro tranversal max. 380 μ.
Test. esquerdo : Diametro antero-posterior 630 μ.
Diametro trans. maximo 420 μ.

Os vazos deferentes partem do meio da face interna dos testiculos, cruzando quazi em diametro a ventoza ventral, para se lançarem na vezicula seminal de que o parazito é provido. Esta comunicação se faz na parte posterior extrema do orgam mencionado. A vezicula seminal colocada no fundo da bolsa do cirro é elipsoide e não enovelada.

Imediatamente a ella se segue a *pars prostatica* que é bem dezenvolvida e apenas um pouco menor que o *ductus ejaculatorius* que lhe faz continuação.

O penis é curto, cilindro-conico e lizo e só o pudemos ver encerrado na bolsa do cirro. Todo esse conjunto que descrevemos agora e que forma a parte externa do aparelho genital masculino, se acha encerrado

Genital Organs.—The genital pore is situated cephalad of the ventral sucker, somewhat distant from the median line. The male and female organs open in the atrium. This organ is not at all well-developed. There is nothing particularly interesting about the structure of the atrium worth while describing.

The two testicles are situated laterally and at the level of the ventral sucker. They are ovoid, long and irregularly indented. The internal surface, which conforms closely to the ventral sucker is more regular, in some specimens completely smooth, in others covered with small elevations and depression. The testicles are situated on the same level.

The size of the two organs vary in the same specimen.

Specimen.—3.5mm. in length :—

Left testicle : Maximum length 528 μ.
» breadth 294 μ.
Right testicle : Maximum length 584 μ.
» breadth 242 μ.

Specimen.—3.5mm. in length :—

Right testicle : Maximum length 670 μ.
» breadth 380 μ.
Left testicle : Maximum length 630 μ.
» breadth 420 μ.

The *vasa deferentia* rise from the internal surface of the testicles, cross the ventral sucker almost in the median line, and enter the posterior part of the vesicula seminis. The ellipsoid vesicula is situated in the cirrhus pouch. From the vesicula seminalis rises the well-developed *pars prostatica*, which is somewhat smaller than the *ductus ejaculatorius*, the third part of the male genital system. The penis, which is short and cylindro-conical, we could only observe in the interior of the cirrhus pouch. The external male organs are all situated in the cirrhus pouch. This pouch is

dentro da bolsa do cirro que é muito clara nesta especie. Fica situada, como é caracteristico do genero, logo adiante da ventoza ventral e em parte coberta por esta, tomando pozição inclinada de modo que a abertura externa no atrio se faz fóra da linha mediana. O espaço compreendido entre estes organs e a parede do saco é inteiramente cheio das chamadas celulas prostaticas.

Organs genitais femininos : — O ovario ocupa a linha mediana, imediatamente para traz da ventoza ventral. E' esferico e de superficie liza sem reintrancias nem lobulações. Em dois exemplares aprezentava as seguintes dimensões :

Ex. N. 1. — 3,5 mm. de comprimento : Diametro — 284 μ.

Ex. N. 2. — 3,5 mm. de comprimento : Diametro — 260 μ.

Devido ás alças do utero e principalmente a pigmentação dessa parte do corpo, que se observava em muitos exemplares examinados não pudemos verificar a existencia do *canal de* LAURER e do *receptaculum seminis*. Um pouco para traz do ovario e lateralmente observámos um orgam, só apreciavel parcialmente : o *ootipo* (?).

As glandulas vitelójenas dispoem-se lateralmente e paralelas ás bordas do corpo, para fóra dos tubos laterais do aparelho excretôr e dos cécos intestinais. São formadas de pequenos ácinos que se reunem entre si, tomando aspeto arborecente. Essas glandulas se estendem desde a bifurcação do *tractus intestinalis* até ao nivel do fundo de saco dos cécos. Cada grupo de glandulas vitelójenas dá orijem á dois tubos excretôres, que depois se reunem em um só que vai ter ao *ootipo*.

Esses tubos vetores do material vitelójeno ficam situados ao nivel do meio do corpo um pouco para traz da ventoza ventral. O *utero* fica situado na sua maior parte para traz do ovario, descrevendo circumvoluções complicadas, transversais, ocupando o espaço compreendido entre os dois cécos e excedendo raramente o limite marcado por estes dois organs. Depois deste emaranhamento o utero dirije-se para a

situated cephalad of the acetabulum. This situation is characteristic of the genus *Dicrœlium*.

Partly covered by the ventral sucker the cirrhus pouch is inclined so that the male organs do not open in the atrium in the median line. The rest of the pouch not occupied by these organs is entirely filled with prostatic cells.

Female genital organs :—The ovary is situated in the median line cephalad of the *acetabulum*. It is round and smooth.

Two specimens gave the following measurements in millimeters :

Specimen No. 1.—3.5mm. in length. Diameter 284 μ.

Specimen No. 2.—3.5mm. in length. Diameter 260 μ.

Owing to the presence of the uterine coils and to the pigmentation of this part of the body we could not come to a conclusion about the existence of LAURER's canal and *receptaculum seminis*.

Caudad of the ovary, laterally situated, we observed an organ only partially distinguishable : the ootype. (?).

Parallel to the lateral margins, bounding externally the lateral tubes of the excretory system and the ceca, lay the vitellogene glands, composed of small acinus which, when joined, are tree-shaped.

These glands extend from the bifurcation of the intestinal ceca till the posterior extremity of cecal tubes. From each group of vitellogene glands rise two excretory tubes, which join, forming one tube extending till the ootype. These tubes are situated at just about the center of the body length, caudad of the ventral sucker. The uterus is situated posterior to the ovary. The coils of the uterus fill the field between the

parte anterior do corpo, passando ao lado do ovario, entre os dois testiculos, por baixo do *acetabulum*, dirijindo-se para o atrio. Termina o aparelho genital, a vajina, bastante longa, estriada transversalmente e que se abre no seio genital ao lado da abertura do *ductus ejaculatorius*. Os ovos são de côr amarelada munidos de membrana bastante espessa de duplo contorno, de forma alongada, sendo o polo oposto ao operculo mais afinado e munido de um espessamento. O operculo é bem claro e a casca aprezenta aí duas depressões simetricas. O conteúdo dos ovos é sempre formado de celulas e, entre estas, observam-se gotas de aspeto oleozo de tamanho variavel, granulozas umas e outras claras e brilhantes. Os ovos estudados foram retirados do utero de um exemplar de 3,5 mm. e medíam na média: Diametro antero-posterior: 40 μ e diametro transversal maximo: 20 μ. Os exemplares-tipos, que serviram a esta descrição, encontram-se na coleção helmintolojica do Instituto Oswaldo Cruz sob o numero 68.

Dispensamo-nos neste trabalho de aprezentar uma diagnoze diferencial, visto não termos encontrado, na literatura, especie deste genero, parazitando serpentes e que possa ser confundida com esta, que aprezentamos como nova.

Quanto á colocação no genero *Dicrocoelium* tivemos algumas duvidas diante da diagnoze dada pelo Prof. A Loos (1899) que tem como tipo *Dicrocoelium lanceatum* Stiles e Hassal, e que só pode ser aplicada ás especies de organização anatomica semelhante á daquelle parazito. O mesmo autor pensa que a diagnoze já bastante limitada, ainda o devia ser mais: separando outros generos, como já propôz, *Lyperosomum* (Loos 1899) para o *Dicroc. strigosum* Braun (1899) e *Athesmia* (Loos) para o *Dicroc. heterolecithodes* Braun (1899).

No emtanto Braun (1902) que aceitou as contribuições de Loos, descreve varias especies de *Dicrocoelium* cuja organização

ceca, rarely exceeding this area. The uterus continues cephalad, bounds the ovary laterally, passes between the testicles under the *acetabulum* and reaches the *atrium*. The uterus continues into a long vagina, transversally striated, which opens at the atrium, next to the aperture of the *ductus ejaculatorius*.

Ova:—The ovum is yellowish. The shell is quite thick and has a double outline. The attenuated pole opposed to the *operculum* has a small elevation. At the *operculum* which is easily distinguished, the shell has two symetric depressions.

The ova contain cells, amongst which light, brilliant, granulous drops, with an oily aspect, are to be seen. These drops vary in size. The ova described were collected from the uterus of specimen 3.5mm. in length.

Average dimensions of the ova:—

Maximum length 40 μ.
» breadth 20 μ.

Type specimen Number 68 Helminthological collection. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, Brazil.

We do not think it necessary to give a differential diagnosis as we did not find in any of the papers at our disposal any trematode of this genus parasite of serpents.

In view of diagnosis given by Prof. Loos, who has for type specimen *Dicrocoelium lanceatum* Stiles and Hassal, we hesitated at first in including the parasite in genus *Dicrocoelium*. The diagnosis of Prof. Loos can only be applied to trematodes possessing identical anatomical characters. Loos thinks also that the boundaries of the genus in question can suffer a certain confinement. *Dicrocoelium stri-*

anatomica é muito semelhante a que agora descrevemos. Acompanhando este ultimo autor na determinação generica, acreditamos não cair em erro; comtudo, não deixamos de pensar com Loos (1899) que uma revizão bastante acurada das especies do genero talvez tivesse como rezultado a separação em varios generos das especies que pela sua organização anatomica e *habitat* semelhantes deixassem claramente ver o seu parentesco natural.

Para terminar este trabalho devemos relembrar que as especies deste genero são raramente parazitos de animais homeotermos e que a nossa especie traz mais esta pequena contribuição para a sistematica helmintolojica.

Manguinhos, 15 — XII — 09.

gosum Braun has been included in genus *Lyperosomum* Braun; and *Dicrocoelium heterolecithodes* Loos, in genus *Athesmia* Braun. Braun (1902), although accepting Prof. Loos's contribution, describes several species of genus *Dicrocoelium* with anatomical characters quite similar to those of the specimen described by us. Accompanying Braun in this particular we subscribe to Loos's opinion that a careful revision of genus *Dicrocoelium* would perhaps lead us to distribute in other genus some of the species actually belonging to this one.

Before finishing we call attention to the fact that worms of this genus are rarely parasites of homeothermical animals.

Manguinhos, 15 — XII — 09.

BIBLIOGRAFIA

Braun . . . . . 1901 Ein neues Dicrocoelium aus der Gallenblasen der Zibetkatze. In Centralblatt für Bakteriologie. Abth. I, Bd. XXX, Jena.

Braun . . . . . 1902 Fascioliden der Vögel. In Zool. Jahrbücher, Bd. XVI, Heft. 1, Abth. f. Systematik.

Braun & Luehe . . . 1909 Leitfaden zur Untersuchung der tierischen Parasiten des Menschen und der Haustier. Wurzburg.

Diesing . . . . . 1850 Systema helminthum. Vindobonae.

Dujardin . . . . . 1845 Historie naturelle des Helminthes. Paris.

Linstow (v.) . . 1878-1889 Compendium der Helminthologie. Hannover.

Loos (A.) . . . . . 1894 Die Distomen unserer Fische und Frösche. In Bibliotheca Zoologica. Heft. XVI. Stuttgart.

Loos (A.) . . . . . 1896 Faune parasitaire etc. In Mémoires de l'Institut Egyptien. v. III, Cairo.

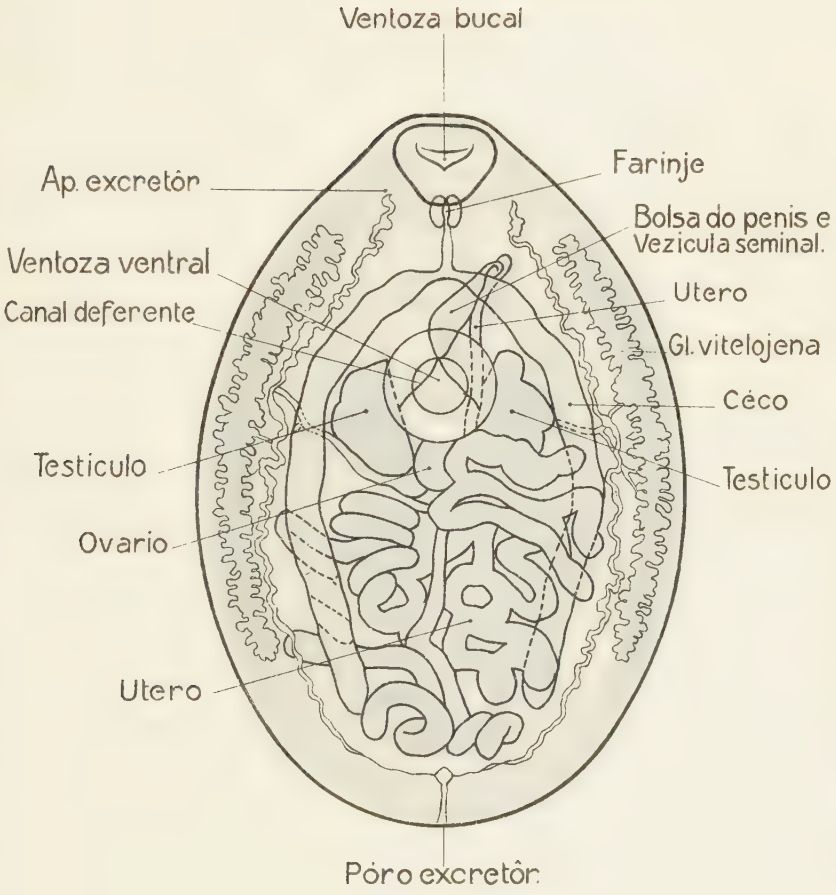
Loos (A.) . . . . . 1899 Weitere Beiträge zur Kenntnis der Trematoden — Fauna Egyptens. Zool. Jahrbücher. Bd. XII, pg. 521, Jena.

Luehe (M.) . . . . 1900 Ueber einige Distomen aus Schlangen und Eidechsen. Centrablatt für Bakteriologie etc. I Abt., Bd. XXVIII. Jena.

Monticeli (Fr. S. de) . 1893 Trematodi endoparassiti. Zool. Jahrbücher, Suppl., Bd. III. Jena.

Stiles (Ch. W.) & Hassal (Alb.) . . 1898 An inventory etc. In Archives de Parasitologie. V. I. Paris.

Stiles (Ch. W.) & Hassal (Alb.) . . 1908 Index-catalogue of medical and Veterinary Zoology. Trematode and Trematóde-diseases. Washington.


Ventoza bucal
Farinje
Ap. excretôr
Bolsa do penis e
Vezicula seminal.
Ventoza ventral
Utero
Canal deferente
Gl. vitelojena
Céco
Testiculo
Testiculo
Ovario
Utero
Póro excretôr

Cazos de infeção pelo bacilo paratifico A e pelo Enteritidis (Gaertner)

PELO

Dr. Arthur Moses.

Zwei Beobachtungen über Infektionen durch Paratyphus- und Enteritidis-Bacillen

VON

Dr. Arthur Moses.

Colhidas no correr de algumas pesquizas em torno do grupo colitifo, julgamos interessantes duas observações em que os metodos de laboratorio aplicados ao diagnostico das febres permitiram firmar diagnostico precizo, quando os dados clinicos levariam a inscrever na estatistica mais um cazo de embaraço ou febre gastrica, infeção intestinal ou colibaciloze.

Refere-se a primeira observação a uma infeção paratifica do tipo A. O exiguo numero de infeções desse tipo até hoje rejistrado autoriza-nos a minuciozamente discorrer sobre o cazo que observámos.

Menos frequente que a paratifica do tipo B explicam alguns autores o fato pelo aspeto macro- e microscopico identico das colonias do bacilo tifico e paratifico e a raridade com que se procede á verificação do germen izolado com soro aglutinante para bacilo paratifico do tipo mencionado.

Ainda assim, KAYSER (1906), na Allemanha e NETTER (1906), no norte da Fran-

Folgende zwei Beobachtungen, welche bei Untersuchungen über die *Coli-typhus*-gruppe gemacht wurden, scheinen mir nicht ohne Interesse, weil die Anwendung der Laboratoriumsmethoden eine genaue Diagnose ermöglichte, während man nach dem klinischen Befunde nur Fälle von Magencatarrh, gastrischem Fieber, intestinaler Infection oder Colibacillose verzeichnet hätte.

Die erste Beobachtung bezieht sich auf eine Infection mit Paratyphusbacillen vom Typus A. Bei der geringen Zahl der bisher bekannten Fälle dieser Kategorie scheint eine eingehendere Besprechung meines Falles gerechtfertigt. Das Factum der grössern Seltenheit der Infection mit *Paratyphus* A gegenüber derjenigen mit dem Typus B wird von einigen Autoren dadurch erklärt, dass im ersten Falle die Kolonien des Erregers denjenigen des Typusbacillus macro- und microscopisch gleichen und man den isolierten Keim nur selten auf sein Verhalte zu mit *Paratyphus* A gewonnenem Serum prüft.

Trotzdem teilten 1906 KAYSER in Deutschland und NETTER in Nord-Frank-

ça rejistram pequenas epidemias de 18 a 19 cazos. Alem destas existem observações izoladas de Gwyn (1898), Cushing (1900), Coleman e Buxton (1902), Johnston (1902), Hewlett (1902), Schottmueller (1901), Zupnik e Posner (1903), Blumenthal (1904), Brion e Kayser (1902), Rolly (1909) e Blandini (1903).

Se despercebidos passam os cazos ao exame de laboratorio, menos claros ainda se aprezentam ao clinico.

Contra Huenermann (1902), Lentz (1908) e Vagedes (1905) que acreditam possivel clinicamente distinguir a infeção paratifica, insurjem-se Clemens (1904), Oppel (1905), Conradi v. Drigalski e Juergens (1903), Lembke (1905) e Kayser (1903).

O quadro clinico, ora se aproxima da infeção tifica de media intensidade, ora se confunde com o simples embaraço gastrico.

A distinção é bacteriolojica, nunca sintomatolojica. Na auzencia de dados bacteriolojicos são os processos biolojicos, que permitem tirar concluzões.

Dezaparece inteiramente a diverjencia nas infeções benignas em que a clinica cede logar á microscopia.

Para a hezitação que existe sobre o papel que em patolojia humana reprezenta o paratifo concorre a ignorancia em que estamos das lezões anatomo-patolojicas. Devemos as primeiras necropsías a Gustav Baermann e Otto Eckersdorff (1909) que, em Sumatra, assinalaram, em dous cazos fatais, alterações difuzas do intestino, sem erozão.

No decurso de pesquizas sistematicas de bacilo tifico nas fezes humanas feriu-nos a atenção no Hospital da Mizericordia (serviço clinico do Dr. Austregesilo) um doente em estado febril e que aprezentava

reich kleine Epidemien von 18 und 19 Fällen mit. Ausserdem gibt es Beobachtungen von Gwyn (1898), Cushing (1900), Coleman und Buxton (1902), Johnston (1902), Hewlett (1902), Schottmüller (1901), Zupnik und Posner (1903), Blumenthal (1904), Brion und Kayser (1902), Rolly (1903) und Blandini (1903).

Wenn diese Fälle schon bei der bacteriologischen Untersuchung leicht übersehen werden, so sind sie klinisch noch schwerer zu erkennen. Gegen Hünermann (1902), Lentz (1908) und Vagedes (1905), welche eine klinische Diagnose der Paratyphusinfection für möglich halten, erheben sich Clemens (1904), Oppel (1905), Conradi, v. Digalski und Jürgens (1903), Lembke (1905) und Kayser (1903).

Das klinische Bild nähert sich bald einer Typhusinfection von mittlerer Intensität, bald gleicht es demjenigen eines einfachen Magencatarrhes. Die Kennzeichnung erfolgt durch die Bacteriologie und nicht durch klinische Beobachtung. Bei Fehlen von bacteriologischen Befunden können die biologischen Methoden zu Schlüssen führen.

Zu der Unsicherheit, welche in der menschlichen Pathologie über die Rolle des Paratyphus besteht, trägt besonders die mangelnde Kenntnis der pathologisch-anatomischen Veränderungen bei. Die ersten Leichenbefunde verdanken wir Gustav Baermann und Otto Eckersdorff (1909), welche in zwei Fällen diffuse Veränderungen des Darmes ohne Erosionen erwähnen.

Bei systematischen Untersuchungen menschlicher Fäces auf das Vorkommen von Typhusbacillen erregte ein Patient der Abteilung des Dr. Austregesilo im «Hospital da Misericordia» meine Aufmerksamkeit, der neben einem fieberhaften Zustande nur gastrointestinale Störungen zeigt. Die bacteriologische Blutuntersuchung, welche zwei Tage nach der Auf-

como sintomas unicos, manifestações gastro intestinais.

Exame bacteriologico. — Em caldo simples e meio enriquecedor de Kayser-Conradi rezultou esteril a hemocultura praticada dias apoz a entrada para o hospital. Com identico rezultado repetimol-o por duas vezes, colhendo material sempre em periodo febril.

Em agar de Drigalski-Conradi e de Endo fizemos largas sementeiras de fezes e urina. Se nas fezes só apareciam colonias de colibacilo, nas urinas, ao lado das colonias vermelhas, que predominavam, encontrámos numerozas outras azuis e redondas, que examinadas ao microscopio revelaram um bacilo curto e movel, descórando-se pelo metodo de Gram. Não nos permitiram identificar o germen a aglutinação macro- e microscopica a que procedemos com soro antitifico e antiparatifico.

Adquirida a noção de que os germens recentemente izolados dificilmente se aglutinam, continuámos a estudar as propriedades culturais do bacilo, transplantando-o diariamente.

Caracteres culturais. — Não liquefaz a gelatina. Não produz indol. Colonias pequenas, transparentes e irizadas, em gelatina. Produção de gazes e fluorecencia em agar de Rothberger-Oldekop. Envermelhecimento e limpidez perzistente em leite de Petruschky. Fermenta glicoze com produção de gazes e não fermenta lactoze.

Ação patojenica. — Quatro miligramas de cultura em agar, em inoculação intraperitonial matam uma cobaia de 300 grs. em 48 horas.

Das aglutininas do soro do doente, da bacteriolize, fixação de complemento e aglutinação do germen izolado, facil é ajuizar pelos quadros seguintes:

nahme vorgenommen wurde, gab ein negatives Resultat, sowohl für Bouillonkulturen, als bei Anwendung des Anreicherungsverfahrens nach Kayser-Conradi; dasselbe erfolgte bei zweimaliger Wiederholung, wobei das Blut bei bestehendem Fieber entnommen wurde.

Fäces und Urin wurden reichlich auf Agar nach Drigalski-Conradi und nach Endo verimpft; bei ersteren erschienen nur Kolonien von Colibacillen, dagegen ergab der Urin neben einer Mehrzahl von roten Kolonien zahlreiche blaue von runder Form, welche unter dem Microscope einen kleinen beweglichen Bacillus zeigten, der sich nach Gram entfärbt. Der macro- und microscopische Agglutinationsversuch, den ich mit Antityphus und Antiparatyphusserum vornahm, gestattete die Bestimmung der Bacillen nicht.

Da mir bekannt war, dass frisch isolierte Keime sich schwer agglutinieren, fuhr ich unter täglichem Ueberimpfen fort, die Kultureigenschaften des Bacillus zu studieren. Dieselben verhielten sich, wie folgt:

Gelatine wird nicht verflüssigt. Es wird kein Indol gebildet. Auf Gelatine sind die Kolonien klein, durchsichtig und irisierend. Auf Agar nach Rothberger-Oldekop beobachtet man Gasbildung und Fluorescenz. Petruschky'sche Molke wird rot und bleibt dauernd klar. Glycose wird unter Gasbildung vergoren, Lactose dagegen nicht.

Von pathogenen Wirkungen wurde beobachtet, dass vier Milligramme Agarkultur bei intraperitonealer Injection ein Meerschweinchen von 300 Gramm in 48 Stunden töten.

Ueber die Agglutination durch das Serum des Patienten, die Bacteriolyse, Komplementablenkung und Agglutination des isolierten Keimes geben die folgenden Tabellen Aufschluss:

Soro do doente — Cultura de 20 horas em agar.

Germen	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560
B. tifico (Musehold)	0	0	0	0	0	0	0	0
B. paratifico (Schottmüller)	++	+	0	0	0	0	0	0
B. paratifico (Brion-Kayser)	++	++	++	++	++	++	+	±

Serum des Patienten — Cultur von 20 Stunden auf Agar.

Bacillus	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560
Typhi (Musehold)	0	0	0	0	0	0	0	0
Paratyphi (Schottmüller)	++	+	0	0	0	0	0	0
Paratyphi (Brion-Kayser)	++	++	++	++	++	++	+	±

Cultura de 20 horas em agar do escantilhão izolado.

Soro	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120
Antitifico.....	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Antiparatifico..... (Brion-Kayser)	++	++	++	++	++	++	++	++	±
Antiparatifico..... (Schottmüller)	++	0	0	0	0	0	0	0	0

Cultur von 20 Stunden auf Agar des isolierten Stammes.

Serum	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120
Gegen Typhus.....	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gegen Paratyphus.. (Brion-Kayser)	++	++	++	++	++	++	++	++	±
Gegen Paratyphus.. (Schottmüller)	++	0	0	0	0	0	0	0	0

2 horas a 37°

1 hora a 37°

Soro anti-paratifico (Brion-Kayser)	Emulsão do escantilhão izolado	Soro de cobaia 1/10	Soro de coelho x carneiro 1:1000	Globulos de carneiro 5 %	Rezultado
0,01	0,2	1 cc.	1 cc.	1 cc.	+
»	0,1	»	»	»	++
»	0,05	»	»	»	+++
»	0,01	»	»	»	+++
0,02	—	»	»	»	+++
—	0,4	»	»	»	+++
—	—	»	»	»	+++

2 Stunden bei 37°

1 Stunde bei 37°

Serum gegen Paratyphus (Brion-Kayser)	Emulsion des isollierten Stammes	Meerschwein-chen-Serum 1/10	Hammelblut-Kaninchen-Serum 1:1000	Hammelblut-körperchen 5 %	Resultat
0,01	0,2	1 cc.	1 cc.	1 cc.	+
»	0,1	»	»	»	++
»	0,05	»	»	»	+++
»	0,01	»	»	»	+++
0,02	—	»	»	»	+++
—	0,4	»	»	»	+++
—	—	»	»	»	+++

Complemento: Soro de coelho	Amboceptor: Soro-antiparatifi o (Brion-Kayser) inativado	Doze de germens	Numero de colonias por placa
0,1	0,1	1/2.500.000 de	4500
»	0,05	alça de uma cultura	4580
»	0,01	de 24 horas em agar	3560
»	0,005	do escantilhão	3560
»	0,001	izolado.	3440
»	—		4460
—	0,1		5700
—	—		6300
0,5	—		0
—	0,5		0

Komplement: Kaninchen-serum	Amboceptor: Serum gegen Paratyphus (Brion-Kayser)	Verwandte Bazillenmenge	Anzahl der Kolonien auf jeder Platte
0,1	0,1	1/2,500,000	4500
»	0,05	Oese einer 24-	4580
»	0,01	stündigen Agar-	3560
»	0,005	cultur des isolierten	3560
»	0,001	Bacillenstammes.	3440
»	—		4460
—	0,1		5700
—	—		6300
0,5	—		0
—	0,5		0

Diz respeito a uma infeção pelo bacilo *enteritidis* do tipo GAERTNER a segunda observação digna de rejistro.

Dificuldades não pequenas surjem na distinção nozolojica da infeção paratifica e da intoxicação alimentar pelo bacilo *enteritidis*, autorizando TRAUTMANN (1904) a considerar a primeira como forma aguda, e a segunda, manifestação subaguda da mesma doença infetuoza. Em favor dessa asserção citam-se as observações de SCHOTTMUELLER (1900) e HETSCH (1906) em que a infeção paratifica se identifica com o mais grave cazo de colera *nostras*. Em periodo epidemico observou HETSCH (1906) nas cercanias de Kobbe cazos outros de infeção paratifica cuja evolução clinica era absolutamente analoga á da colera.

Na impossibilidade de superar as dificuldades, JUERGENS reune todas essas infeções, embora etiolojicamente bem definidas, sob a vasta rubrica de paratifobacilozes.

Para o hospital de izolamento de São Sebastião foi transportado em 12 de Junho de 1909 um doente, trazendo da clinica civil o dubio diagnostico de colerina. Dores abdominais, cefalalgia, forte depressão nervoza, pequena albuminuria, fezes diarreicas, amarelas e fetidas, eis em rezumo o que acuzava o exame clinico.

A esterilidade da hemocultura, assim como a auzencia no soro de aglutininas para qualquer dos germens do grupo coli-tifo foram os primeiros fatos rejistrados.

Dous dias apoz a entrada para o hospital, semeámos fezes em placas de agar de DRIGALSKI-CONRADI. Examinadas 20 horas depois encontrámos, ao lado de colonias de colibacilo, grande numero de outras azuis, redondas e grandes perfeitamente distintas. Eram estas colonias constituidas por bacilos muito curtos, gram-negativos e absolutamente imoveis.

Contrariado, embora, pelo aspeto das fezes julgámos tratar-se de um cazo de di-

Die zweite bemerkenswerte Beobachtung bezieht sich auf einen Fall von Infection durch den *Bacillus enteritidis* vom Typus GAERTNER.

Die klinische Unterscheidung zwischen der Paratyphusinfection und der durch den *bacillus enteritidis* hervorgerufenen Nahrungsmittelvergiftung stösst auf nicht geringe Schwierigkeiten, sodass TRAUTMANN (1904) sich berechtigt fühlte, erstere als acute und letztere als subacute Manifestation derselben Infectionskrankheit anzusehen. Zu Gunsten dieser Angabe werden die Beobachtungen von SCHOTTMÜLLER und HETSCH (1906) angeführt, bei welchen die Paratyphusinfection den schwersten Choleranostrasfällen glich. Zur Zeit einer Epidemie beobachtete HETSCH (1906) in der Umgegend von KOBBE andere Fälle von Paratyphusinfection, deren klinischer Verlauf absolut der Cholera entsprach.

Bei der Unmöglichkeit, diese Schwierigkeiten zu überwinden, vereinigt Jürgens alle diese Infectionen ungeachtet der offenbaren aetiologischen Verschiedenheit unter der weiten Rubrik der Paratyphusbacillosen.

Am 12ten Juni 1909 wurde ein Patient nach dem Isolierspital von SÃO SEBASTIÃO verbracht, bei dem vorher die unsichere Diagnose Cholerine gemacht worden war. Die klinische Untersuchung ergab Leibschmerzen, starke nervöse Depression, mässige Albuminurie und gelbgefärbte, übelriechende, diarrhöeische Entleerungen.

Sterilität der Blutkulturen, sowie fehlende Agglutination mit den verschiedenen Bacillen aus der Colityphusgruppe waren die in erster Linie erhobenen Befunde. Zwei Tage nach Aufnahme beschickte ich Platten mit Agar (nach der Vorschrift von DRIGALSKI-CONRADI) mit Fäces und fand 20 Stunden später neben Colikolonien zahlreiche andere gut characterisierte Kolonien von blauer Farbe, runder Form und beträchtlicher Grösse, welche von sehr kurzen und ganz unbeweglichen, gramnegativen Bacillen gebildet waren.

Trotz des widersprechenden Aussehens der Fäces glaubte ich, dass es sich um einen Fall von bacillärer Dysenterie handle

zenteria bacilar. Proseguindo nesse rumo procedemos á aglutinação microscopica, que foi negativa.

Transplantado aos meios habituais para ulteriores verificações obtivemos mais os seguintes dados: Turva o caldo. Não liquefaz gelatina. Não coagula leite. Colonias brancas lijeiramente granulozas, em agar e gelatina. Cultura abundante em leite de PETRUSCHKY, que se mantem inalterada. Fluorecencia na geloze de ROTBERGER-OLDEKOP. Fermenta glicoze e lactoze com produção de gazes. Auzencia de indol.

Ação patojenica. — Inoculação subcutanea de uma alça normal de cultura mata cobaia e coelho em 3—4 dias. O aquecimento a 70° durante 30 minutos ou a 100° durante 10 minutos não destroe a ação patojenica do bacilo.

Na motilidade do germen está o ponto interessante da observação. Imovel nas culturas em agar era dotado de movimentos ativos, quando semeado em caldo. Transplantado da cultura em caldo para o agar continuava o germen bastante movel. Na noite do dia 15, faleceu o doente e na manhã de 16 autopsiamol-o. Lezões pronunciadas de gastroenterite hemorrajica e lijeiro aumento do baço era o que de mais acentuado aprezentava o exame necroscopico.

Do baço, figado e da mucoza intestinal izolámos um germen que facilmente identificámos com aquele que das fezes haviamos izolado.

A marcha da infeção, as lezões rejistradas em necropsia e os carateres morfolojicos e culturais do germen izolado levavam-nos a acreditar que se tratava de infeção pelo bacilo *enteritidis*.

Para elucidação deste ponto rezolvemos lançar mão dos processos biolojicos de diagnostico. A aglutinação, bacteriolize e fixação de complemento permittiram-nos, não só afirmar tratar-se de um bacilo *enteritidis*, mas ainda do tipo GAERTNER desse germen.

und erprobte in diesem Sinne die mikroscopische Agglutination mit ganz negativem Resultate.

Nach Ueberimpfung auf die gewöhnlichen Nährböden zum Zwecke weiterer Studien stellte ich noch Folgendes fest: Der Bacillus trübt die Nährbouillon, verflüssigt Gelatine nicht und lässt die Milch ungeronnen. Auf Agar und Gelatine bildet er weisse, etwas körnige Kolonien. In PETRUSCHKY'scher Molke wächst er reichlich, ohne dieselbe zu verändern, während er auf Agar nach ROTHEBERGER-OLDEKOP Fluorescenz hervorruft. Glycose und Lactose werden unter Gasbildung vergoren. Indol wird nicht gebildet. Subcutane Einführung einer Normalöse der Kultur tötet Meerschweinchen und Kaninchen in 3—4 Tagen. Erwärmung auf 70 Grad während 30 oder auf 100 während 10 Minuten zerstört die pathogene Wirkung des Bacillus nicht.

Das Hauptinteresse der Beobachtung bezieht sich auf die Beweglichkeit des Bacillus, welcher, in Agarkulturen unbeweglich, dagegen auf Bouillon verimpft lebhafte Bewegungen zeigte. Nach der Uebertragung auf Agar behielt der Keim eine ziemliche Beweglichkeit.

In der Nacht des 15ten starb der Patient und am 16ten machte ich die Autopsie welche als deutlichsten Befund ausgesprochene Zeichen einer hämorrhagischen Gastroenteritis und leichte Milzschwellung ergab. Aus Milz, Leber und Darmschleimhaut gewann ich einen Bacillus, den ich mit dem aus den isolierten Stühlen mühelos identificieren konnte.

Der Verlauf der Infection, die bei der Necropsie erhobenen Befunde, sowie die morphologischen und kulturellen Charactere des isolierten Keimes überzeugten mich, dass es sich um den *bacillus enteritidis* handle. Um diesen Punkt aufzuklären, beschloss ich, mich der biologischen Methoden für die Diagnose zu bedienen. Agglutination, Bacteriolyse und Komplementablenkung gestatteten mir, festzustellen, dass es sich nicht nur um den *Enteritisbacillus*, sondern auch um den GAERTNER'schen Typus dieses Keimes handle.

Cultura de 24 horas em agar do escantilhão izolado

SORO	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560
Aglutinante para bacilo enteriitidis (Gaertner).....	++	++	++	++	++	+	+	±
Aglutinante para bacilo enteritidis (Guenther) ...	0	0	0	0	0	0	0	0
Aglutinante para bacilo paratifico (Schottmüller)	0	0	0	0	0	0	0	0

Kultur des isolierten Stammes auf Agar (24 St.)

SERUM	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560
Agglut. Serum für b. enteritidis (Gaertner).....	++	++	++	++	++	+	+	±
Agglut. Serum für b. enteritidis (Günther).....	0	0	0	0	0	0	0	0
Agglut. Serum für b. paratyphi (Schottmüller)	0	0	0	0	0	0	0	0

2 horas a 37°

1 hora a 37°					
Soro x bacilo enteritidis (Gaertner)	Emulsão do escantilhão izolado	Soro de cobaia $^1/_{10}$	Soro de coelho x carneiro 1:1000	Globulos de carneiro 5 %	Rezultado
0,02	0,2	1 cc.	1 cc.	1 cc.	+
»	0,1	»	»	»	+
»	0,05	»	»	»	++
»	0,01	»	»	»	+++
0,04	—	»	»	»	+++
—	0,4	»	»	»	+++
—	—	»	»	»	+++

2 Stunden bei 37°

1 Stunde bei 37°					
Serum gegen b. Enteritidis (Gaertner)	Emulsion des isolierten Stammes	Meerschweinchenserum $^1/_{10}$	Hammelblutkaninchenserum 1:1000	Hammelblutkörperchen 5 %	Resultat
0.02	0.2	1 cc.	1 cc.	1 cc.	+
»	0.1	»	»	»	+
»	0.05	»	»	»	++
»	0.01	»	»	»	+++
0.04	—	»	»	»	+++
—	0.4	»	»	»	+++
—	—	»	»	»	+++

Complemento: soro de coelho	Amboceptor soro x bacilo enteritidis (Gaertner) inativado	Doze de germens	Numero de colonias por placa
0,1	0,1	1/2.500.000	4905
»	0,05	de alça de uma cul-	4587
»	0,01	tura de 24 horas em	3568
»	0,005	agar do escantilhão	3560
»	0,001	izolado.	3440
»	—		4800
—	0,1		5200
—	—		6200
0,5	—	—	0
—	0,5	—	0

Komplement: Kaninchen-serum	Anboceptor: Inaktivirtes se-rum gegen b. Enteritidis (Gaertner)	Verwandte Bazillenmenge	Anzahl der Kolonien auf jeder Platte
0.1	0.1	1/2 500 000	4905
»	0.05	Oese einer 24-	4587
»	0.01	stündigen Agar-	3568
»	0.005	cultur des isolierten	3560
»	0.001	Bacillenstammes.	3440
»	—		4800
—	0.1		5200
—	—		6200
0.5	—	—	0
—	0.5	—	0

BIBLIOGRAFIA

Baermann, G. & Eckersdorff O.	1909	Berl. Klin. Wochenschr. No. 40, p. 1802.
Blumenthal, Fr.	1904	Münch. Med. Wochenschr. No. 37, p. 1641.
Brion & Kayser	1902	Münch. Med. Wochenschr. No. 15, p. 611.
Clemens	1904	Deut. Med. Wochenschr. Nos. 8/9, p. 280 e 314.
Coleman & Buxton	1902	Journ. of the Amer. Med. Associat., p. 976.
Conradi, v. Drigalski & Juergens	1903	Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42, p. 141.
Cushing	1900	John Hopk. Hosp. Bull.
Netter apud Kayser	1906	Centralbl. f. Bakt. Bd. 40, p. 285.
Gwyn	1898	John Hopk. Hosp. Bull, p. 54.
Hetsch	1906	Klin. Jahrb. Bd. 16.
Hewlett	1902	Journ. of the Amer. Med. Associat., p. 200.
Huenermann	1902	Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40, p. 522.
Johnston	1902	Journ. of the Amer. Med. Associat., p. 187.
Juergens	1907	Deut. Med. Wochenschr. Nos. 1/2.
Kayser	1903	Deut. Med. Wochenschr. No. 18, p. 309.
Kayser	1906	Centralbl. f. Bakt. Bd. 40, p. 285.
Lembke	1905	Zeitschr. f. Med. Beamte. No. 8, p. 233.
Lentz apud Konrich	1908	Klin. Jahrb., p. 247.
Oppel	1905	Deut. Med. Wochenschr.
Paladino Blandini	1903	Ann. d'Ig. speriment. T. 15, p. 159 apud Kayser : Centrabl. f. Bakt. Bd. 40, p. 285. 1906.
Rolly	1909	Deut. Arch. f. Klin. Med. Bd. 85, Heft 5/6 apud Lubarsch, O. und Ostertarg, R. : Erg. der Allg. Pathol. u. Anat. des Menschen u. der Tiere.
Schottmueller	1900	Deut. Med. Wochenschr. No. 32, p. 511.
Schottmueller	1901	Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36, p. 368.
Trautmann	1904	Zeitschr. f. Hyg. Bd. 46, p. 68.
Vagedes	1905	Klin. Jahrb. Bd. 14, p. 517.
Zupnik & Posner	1903	Prag. Med. Wochenschr. No. 18.

Pesquizas sobre a Polytomella agilis n. g., n. sp.

PELO

Dr. H. de Beaurepaire Aragão,

Assistente.

(Com Estampa 3.)

Untersuchungen ueber Polytomella agilis n. g., n. sp.

VON

Dr. H. de Beaurepaire Aragão,

Assistenten am Institute.

(Hierzu Tafel 3.)

No decurso de pesquizas sobre os protozoarios de agua doce no Instituto, nestes ultimos tempos, muito frequentemente tivemos ocazião de vêr dezenvolver em nossas cubas de cultura, entre numerozas outras fórmas, um flajelado, assaz interessante, com cujo estudo nos ocupámos durante algum tempo.

Constitue motivo do prezente trabalho, o rezultado das observações então feitas, sobre a morfolojia e biolojia do flajelado, durante as quais tivemos sempre a felicidade de poder dispôr dos eruditos conselhos do eminente protozoolojista e nosso mestre o Dr. S. v. Prowazek ao qual aqui deixamos rejistrados os nossos melhores e mais sinceros agradecimentos.

MATERIAL E TECNICA.

O flajelado foi encontrado diversas vezes nas cubas em que colocavamos agua doce de diferentes poços e pequenas fontes das vizinhanças do Instituto, com o fim de obter culturas dos diversos protozoarios dessas aguas. Quando o flajelado em questão aparecia nas culturas geralmente se tornava, desde os primeiros dias, muito abundante, sendo então bastante facil izo-

Während der Untersuchungen, welche an diesem Institute in letzter Zeit über Süsswasserprotozoen angestellt wurden, hatte ich sehr häufig Gelegenheit, in Kulturgefässen neben zahlreichen anderen Formen eine sehr interessente Flagellatenart auftreten zu sehen, deren Studium ich einige Zeit gewidmet habe. Das Resultat der dabei gemachten Beobachtungen über die Morphologie und Biologie dieses Flagellaten bildet den Gegenstand vorliegender Arbeit ; bei diesen Untersuchungen stand mir immer die sachkundige Beratung meines Lehrers, des hervorragenden Protozoenforschers Dr. S. v. Prowazek, zur Verfügung, dem ich hierfür meinen besten und aufrichtigsten Dank ausspreche.

MATERIAL UND TECHNIK.

Das Flagellat wurde mehrere Male in den Gefässen gefunden, in welchen ich Wasser aus verschiedenen Quellen und Tümpeln aus der Nähe des Institutes aufbewahrte, um Kulturen der darin enthaltenen Protozoen zu gewinnen. Wenn dasselbe in den Kulturen auftrat, vermehrte es sich in der ersten Tagen so reichlich, dass es ziemlich leicht gelang, nach der gewöhn-

lal-o em cultura pura em infuzão de folhas de couve, seguindo a tecnica habitual. Nestas culturas elle prolifera abundantemente e nellas se tem esplendido recurso para o seu estudo. E' de toda a vantajem trabalhar com culturas puras, porque, sendo o flajelado, á primeira vista, muito semelhante a uma *Polytoma*, em cuja companhia muitas vezes prolifera, torna-se possivel a confuzão de um com outro protozoario, quando prezentes na mesma cultura.

Nas culturas permanecem por muito tempo vivos os flajelados. E', porém, nas recentes que se observam em melhores condições as diferentes fazes do dezenvolvimento que nelles é, então, mais regular e menos sujeito a dejenerações. Não são, porém, sem vantajem as culturas um pouco antigas. De um módo geral se póde dizer que nos primeiros dias de cultura se observam melhor as fazes de divizão do protozoario e que já as mais idozas se prestam particularmente ao estudo da copulação e do encistamento. O estudo do flajelado foi feito, tanto a fresco, como nas preparações fixadas. Para o exame a fresco muito se recomenda o emprego da gota pendente ou da camara humida ; as preparações entre lamina e laminula, ao contrario, são pouco utilizaveis, porque nella rapidamente morre o flajelado á mingua de oxijenio. As colorações vitais escasso recurso oferecem ao estudo do protozoario, pois as materias córantes, *Neutralrot*, azul de metilenio, *Brillantkresilblau* só manifestam as suas propriedades córantes depois da morte do organismo.

Para o estudo da *Polytomella* em preparados fixados, o metodo que melhor rezultado ofereceu, foi o de fazer preparados totais em laminulas cobertas préviamente com lijeira camada de albumina e que tendo ainda o material humido, eram lançadas no liquido fixador. As soluções fixadoras por nós mais frequentemente uzadas, foram o sublimado-alcool e o liquido de Flemming ; o formol, o liquido de Hermann, o sublimado-acetico tambem foram experimentados, porem, com rezultado não supe-

lichen Technik eine Reinkultur in einer Infusion von Kohlblättern zu erhalten. In diesem Medium vermehrt er sich sehr reichlich und bietet die günstigsten Bedingungen für seine Erforschung. Die Verwendung von Reinkulturen ist von wesentlichem Vorteile, da sich häufig zugleich mit unserem Flagellaten eine *Polytoma* entwickelt, welcher er auf den ersten Blick sehr ähnlich sieht, so dass eine Verwechslung beider Protozoen möglich wird, wenn sie sich in derselben Kultur vorfinden.

In den Kulturen erhalten sich die Flagellaten lange Zeit lebendig ; doch bieten frisch angelegte die besten Bedingungen für die Beobachtung der verschiedenen Phasen der Entwicklung, welche dann regelmässiger vor sich gehen und weniger Degenerationen unterworfen sind ; immerhin haben auch etwas ältere Kulturen ihre Vorteile. Im Allgemeinen kann man sagen, dass die Teilungsphasen am besten in den ersten Tagen der Kulturen beobachtet werden, während die älteren sich mehr für das Studium der Kopulation und der Incystierung eignen.

Die Flagellaten wurden zum Teil lebend, zum Teil an fixierten Präparaten untersucht. Für den ersteren Fall empfiehlt sich die Anwendung des hängenden Tropfens oder der Camara humida ; dagegen sind Präparate mit aufgelegtem Deckglase weniger zu gebrauchen, da in solchen die Flagellaten durch Sauerstoffmangel rasch absterben. Vitalfärbungen bieten beim Studium der Protozoen geringen Nutzen, da die Farbstoffe Neutralrot, Methylenblau und Brillantkresylblau ihre färbende Eigenschaft erst nach dem Tode des Organismus zeigen.

Beim Studium der *Polytomella* an fixierten Präparaten erhielt ich die besten Resultate, wenn Gesammtpräparate auf Deckgläschen, die zuvor mit einer dünnen Albuminschicht überzogen waren, hergestellt und noch feucht in die Fixierflüssigkeit geworfen wurden. Als solche wandte ich am häufigsten Sublimatalkohol und Flemming'sche Flüssigkeit an ; auch For-

rior ao dos liquidos mencionados em primeiro lugar. Tambem uzámos de preparados fixados, depois de secos pelos alcoles absoluto e metilico para as colorações pelo GIEMSA.

A incluzão do material e o seu estudo em córtes mostrou-se de mediocre vantajem.

O metodo de colorações mais apropriado ao estudo da estrutura pelas minucias que oferece é incontestavelmente a hematoxilina férrea, segundo HEIDENHAIN ou MALLORY. A hematoxilina de BOEHMER e a de GRENACHER não revelam com tanta nitidez os finos pormenores de estrutura e o GIEMSA quazi que só encontra emprego no estudo da estrutura dos flajelos.

SISTEMATICA.

A' primeira vista, o flajelado que estudamos, muito se aproxima de uma *Polytoma* pelo aspeto geral ; della se destingue logo porem, por não possuir membrana envolvente, ter quatro flajelos, ao em vez de dois e pela auzencia de entozoma no nucleo, além de outros caractéres em relação com a biolojia entre os quais avulta o processo de divizão, totalmente diferente nos dois protozoarios.

A' medida que formos descrevendo a morfolojia do flajelado e relatando a sua biolojia, ir-se-ão acentuando essas diferenças ; por agóra, não é necessario entrar em maiores minucias a seu respeito. Diverjindo o flajelado das politomas e, por outro lado, não sendo possivel identifical-o com os demais generos conhecidos, forçozo se tornou criar novo genero que denominámos « *Polytomella* » de que fica sendo tipo com a denominação especifica « *agilis* ».

O novo genero, pensamos, deve ser incluido entre os que constituem a familia das *Amphimonadaceae* na classificação de flajelados segundo SENN.

MORFOLOJIA.

O corpo da *Polytomella* tem geralmente a fórma de um ovoide bastante regular, não raro porém, de fórma alongada.

mol, HERMANN'sche Flüssigkeit und Sublimat mit Essigsäure wurden erprobt, doch war das Resultat nicht besser, als bei den erst erwähnten Gemischen. Für die Färbung nach Giemsa verwandte ich auch Präparate, welche nach dem Antrocknen in absolutem oder Methyl-Alkohol fixiert wurden.

Einbettung des Materiales und Schneiden desselben bot für das Studium nur geringe Vorteile.

Zum Studium der Struktur eignet sich wegen der Details, die sie erkennen lässt, unzweifelhaft am besten die Färbung mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN oder MALLORY. BOEHMER'sches und GRENACHER'sches Hämatoxylin zeigen die feineren Einzelheiten nicht mit derselben Deutlichkeit und die GIEMSAfärbung findet fast nur zum Studium der Geisselstruktur Verwendung.

KLASSIFICATION.

Das von mir studierte Flagellat erscheint beim ersten Anblick in seiner Gesammterscheinung einer *Polytoma* sehr ähnlich ; doch unterscheidet es sich von derselben sofort dadurch, dass er vier statt zwei Geisseln, dagegen keine Hüllmembran und im Kerne kein Entosom besitzt, abgesehen von anderen biologischen Charakteren, unter welchen der ganz verschiedene Teilungsprocess oben ansteht. Im Verlaufe der morphologischen und biologischen Beschreibung treten diese Unterschiede deutlich zu Tage, so dass es für den Augenblick überflüssig ist, in weitere Einzelheiten einzutreten.

Da sich dieses Flagellat einerseits von *Polytoma* unterscheidet und andererseits auch mit anderen bekannten Gattungen nicht identificieren lässt, war es nötig, für denselben ein neues Genus aufzustellen ; ich nenne dieses *Polytomella* und die typische Species *agilis*. Ich glaube, dass die neue Gattung in der von SENN (Pflanzenfamilien, Bd. 1) aufgestellten Flagellatenklassification den *Amphimonadinen* zugewiesen werden muss.

Na extremidade mais alargada que é a anterior, aprezenta o flajelado um pequeno rostrilho sob a fórma de calota membranoza que se aplica sobre restrita zona dessa porção do protozoario.

O corpo da *Polytomella* é constituido por uma massa de protoplasma desprovida de membrana, no interior da qual se encontram o nucleo, numerozas granulações e vacuolos pulsateis. Da porção anterior do corpo, logo abaixo do rostrilho, nacem quatro flajelos iguais, dirijidos para diante, que asseguram a mobilidade ao protozoario.

O comprimento da *Polytomella* é, em média, de 17 μ incluido o rostrilho; a largura atinje 8 μ. A seguir passamos á descrição por menor de cada elemento constituinte do corpo da *Polytomella;* antes, porém, chamamos a atenção para as Fig. 1 e 21 da Estampa 3 que facilitam a compreensão da estrutura do flajelado.

PROTOPLASMA.

A *Polytomella* possue um protoplasma de estrutura alveolar, de colorido amarelo palido, pouco refrinjente, aprezentando largas malhas, mais abundantes na porção posterior do corpo, e uma estrutura mais delicada na rejião que fica para diante do nucleo. Em torno ao nucleo e na periferia do flajelado póde observar-se uma orla de alveolos regulares.

A *Polytomella* não possue membrana e apenas uma orla de protoplasma mais condensada e de estrutura fibrilar constitue o limite externo do corpo.

As malhas do protoplasma, acima citadas, são ocupadas por numerozos microgranulos, muito refrinjentes de côr amarela clara, pouco abundantes, arredondados nas fórmas tenras do protozoario e que, com a idade se transformam em curtos bastonetes fuziformes, cujo numero aumenta, e finalmente, todo o protoplasma fica cheio delles. A substancia dessas granulações córa-se em pardo violeta pelo iodo, a frio; aquecida

MORPHOLOGIE.

Der Körper der *Polytomella* zeigt gewöhnlich eine ziemlich regelmässige Eiform, doch ist er nicht selten in die Länge gezogen. An dem breiteren Vorderende zeigt sie einen kleinen Rüssel in der Form einer haubenförmigen Membran, welche einer beschränkten Zone dieser Gegend aufsitzt. Der Körper der Polytomella besteht aus einer membranlosen Protoplasmamasse, welche einen Kern, zahlreiche Granulationen und pulsierende Vacuolen einschliesst. Am Vorderende des Körpers, gleich unter dem Rüssel, entspringen vier gleich lange, nach vorn gerichtete Geisseln, welche diesem Protozoen die Beweglichkeit verleihen.

Die Länge des Protozoen beträgt im Mittel einschliesslich des Rüssels 17 μ, die Breite erreicht 8 μ.

Bevor ich auf eine genauere Beschreibung der einzelnen Elemente eingehe, welche den Körper der *Polytomella* bilden, verweise ich auf die Figuren 1 und 2 der Tafel 3, welche das Verständnis der Struktur dieses Flagellaten erleichtern sollen.

PROTOPLASMA.

Die *Polytomella* besitzt ein Protoplasma von alveolärer Struktur, welches blass-gelb gefärbt und wenig lichtbrechend ist; es zeigt weite Maschen, welche in der hinteren Hälfte des Körpers reichlicher auftreten, und eine zartere Struktur in der vor dem Kerne gelegenen Region. Um den Kern und in der Peripherie des Flagellaten beobachtet man einen Saum von viereckigen Alveolen. Eine Membran ist nicht vorhanden und der Körper wird nach aussen nur von einem Saume verdichteten Protoplasmas von fibrillärer Struktur begrenzt.

Die bereits angeführten Protoplasmamaschen enthalten in grosser Zahl kleine, stark lichtbrechende, hellgelbe Körnchen; in den jungen Formen sind sie spärlich und rund, verwandeln sich aber mit zunehmendem Alter in kurze spindelförmige Stäb-

adquire coloração avermelhada, não é soluvel na agua, no alcool, no éter, no clorofórmio e no xilol ; a ação prolongada da saliva impede a reação do iodo ; ella aprezenta, em suma, caractéres que a fazem aproximar do paraglicójeno.

NUCLEO.

O nucleo acha-se colocado no interior do protoplasma, a meia distancia das extremidades do flajelado. A fresco aparece sob a fórma de pequena vezicula, um pouco menos refrinjente que o protoplasma. Nos preparados córados, e melhor ainda nos a fresco, se percebe a sua estrutura. Verifica-se então que é constituido da seguinte fórma : em primeiro lugar aprezenta uma membrana nitida, de duplo contorno que o limita externamente e em cuja parede interna se vêm aplicadas pequenas massas de cromatina equidistantes e que formam um revestimento e membrana. A esta camada de cromatina segue-se uma zona de substancia acromatica que a izola do cariozoma. Este se aprezenta sob a fórma de pequeno corpusculo esferico, pouco refrinjente a fresco e intensamente córado nos preparados fixados e tratados pela hematoxilina. No interior do cariozoma ainda se póde observar, a fresco, a prezença de pequeno centriolo. O cariozoma não se acha livre no interior do nucleo ; delgadas fibrilas de substancia acromatica ligam-no á parede interna da membrana nuclear e mantem-no constantemente na mesma pozição, no centro do nucleo. De tal modo constituido o nucleo da *Polytomella* aprezenta duas porções distintas, uma periferica, a das massas de cromatina que se aplicam á membrana, outra central ou cariozomica. São ambas constituidas por substancia comparavel á cromatina nuclear e goza cada uma de autonomia que se revela com toda a nitidez por ocazião da divizão, durante a qual se revela o tipo binuclear do protozoario. Tem-se então a impressão de que no nucleo da *Polytomella* ha constituição dupla como se houvesse um nucleo encaixado dentro do outro.

chen, deren Zahl zunimmt, bis sie zuletzt das ganze Protoplasma ausfüllen. Mit Jod behandelt färben sie sich in gewöhnlicher Temperatur violettbraun, beim Erhitzen nehmen sie eine rötliche Färbung an ; in Wasser, Alkohol, Ether, Chloroform und Xylol sind sie unlöslich. Eine längere Einwirkung von Speichel hebt die Jodreaction auf ; kurz, sie zeigen Eigenschaften, welche sie als dem Paraglycogen nahe stehend charactersieren.

KERN.

Der Kern befindet sich im Innern des Protoplasmas, von beiden Körperenden des Flagellaten gleich weit entfernt. Im frischen Präparate erscheint er als ein kleines, etwas weniger lichtbrechendes Bläschen ; nach der Färbung tritt seine Struktur deutlicher hervor und man erkennt nachfolgende Zusammensetzung : In erster Linie zeigt er eine scharf umschriebene, doppelt kontourierte Membran, welche ihn nach aussen begrenzt ; ihrer Innenseite liegen in gleichen Abständen kleine Chromatinmassen an. Auf diese Chromatinschicht folgt eine Zone achromatischer Substanz, welche sie vom Caryosom trennt. Dieses zeigt die Form eines kleinen runden Körperchens und erscheint in frischem Zustande wenig lichtbrechend, in fixierten und mit Hämatoxylin gefärbt Präparaten dagegen intensiv gefärbt ; im ersteren Falle erkennt man noch die Gegenwart eines kleinen Centriols. Das Caryosom liegt im Innern des Kernes nicht frei, sondern durch zarte Fasern achromatischer Substanz mit der Innenseite der Kernmembran verbunden und in seiner Lage in der Mitte des Kernes fixiert. Demgemäss bietet der Kern der *Polytomella* zwei verschiedene Teile, von denen der peripherische durch die der Membran angelagerten Chromatinmassen repräsentiert wird ; der andere ist central und entspricht dem Caryosom. Beide bestehen aus einer Substanz, welche dem Kernchromatin entspricht und sind gegenseitig unabhängig, wie dies ganz deutlich bei Gelegenheit der Teilung zu

Este tipo nuclear tão curiozo não parece raro, nós já o encontrámos na *Amoeba diplomitotica* (1906) e tambem em uma especie de *Bodo saltans* e é provavel que ainda se aprezente em muitos outros protozoarios. Tal estrutura nuclear parece-nos de bastante importancia, pois é carateristica da binucleidade dos protozoarios.

FLAJELOS.

O numero normal de flajelos da *Polytomella* é de quatro que se orijinam de outros tantos corpusculos bazais, dispostos crucialmente, na extremidade anterior do corpo, no limite entre esta e o rostrilho, cuja porção periférica é atravessada pelos flajelos. Delgadas fibrilas rizoplasticas em numero de quatro, geralmente pouco aparentes, estabelecem ligação entre os corpusculos bazais e o nucleo.

Os flajelos são iguais, dirijidos todos para diante, medem cerca de 22 μ de comprimento e têm estrutura homojenia.

VACUOLOS PULSATEIS.

A *Polytomella* aprezenta dois vacuolos pulsateis colocados, um ao lado do outro, na extremidade anterior do corpo, logo abaixo do rostrilho e de cada lado da linha mediana. Estes vacuolos pulsam alternativamente, com pequeno intervalo e não excedem, quando completamente cheios, a 2 ou 3 μ de diametro.

ROSTRILHO.

O rostrilho da *Polytomella* tem a fórma de pequena calota membranoza, transparente, aplicada á extremidade anterior do flajelado. A fórma varía bastante; ora se aprezenta muito saliente, ora achatado; nas fórmas mais regulares orça o seu diametro por 2 μ e a largura não excede a 4 μ. No interior do rostrilho orgam algum; apenas a sua periferia dá passajem aos flajelos, que, como já vimos, nacem lógo abaixo delle.

Tage tritt, welche den binucleären Typus der *Polytomella* beweist. Man hat dann den Eindruck, dass ihr Kern eine doppelte Constitution zeigt, wie wenn ein Kern im andern eingeschachtelt wäre.

Dieser merkwürdige Kerntypus scheint nicht selten, denn ich habe ihn bereits bei der *Amoeba diplomitotica* und einem *Bodo* vom Typus des *Saltans* beobachtet; wahrscheinlich findet er sich noch bei vielen anderen Protozoen. Eine solche Struktur erscheint mir sehr bedeutsam, weil sie die Doppelkernigkeit der Protozoen characterisiert.

GEISSELN.

Die Zahl der Geisseln der *Polytomella* beträgt in der Regel vier und sie entspringen von ebensovielen Basalkörperchen, welche kreuzweise am Vorderende des Körpers, an der Grenze zwischen diesem und dem Rüssel, liegen, wobei der Rand des letzteren von den Geisseln durchsetzt wird. Vier zarte und gewöhnlich wenig deutliche Rhizoplastfasern vermitteln die Verbindung der Basalkörperchen mit dem Kerne. Die Geisseln sind gleich lang, nach vorn gerichtet, ca. 22 μ lang und von homogener Struktur.

PULSIERENDE VACUOLEN.

Die *Polytomella agilis* zeigt zwei pulsierende Vacuolen, welche nebeneinander am Vorderende des Körpers gelegen sind und zwar zu beiden Seiten der Mittellinie dicht hinter dem Rostellum. Sie pulsieren abwechselnd in kurzen Zwischenräumen und überschreiten auch bei vollständiger Füllung den Durchmesses von 2—3 μ nicht.

ROSTELLUM.

Das Rostellum der *Polytomella* hat die Form eines durchsichtigen membranösen Kugelabschnittes, welcher dem Vorderende des Flagellaten angefügt ist. Seine Form wechselt beträchtlich, indem es sich bald vorspringend, bald abgeflacht präsentiert; in der regelmässigsten Form beträgt

BIOLOJIA.

O movimento de *Polytomella agilis*, graças á ação conjunta dos quatro flajelos que possue, é extremamente vivo, rapido e variavel ; ora o protozoario se desloca em linha réta, ora mais frequentemente com pequenas digressões para um lado ou para outro, mudando a cada momento de rumo. Emquanto se desloca o flajelado vibra quazi constantemente e gira sobre seu eixo lonjitudinal.

Curiozo fato se observa nas culturas já um pouco velhas e com certa tendencia ao encistamento, quando examinadas em gota pendente. Nota-se, então, que o flajelado depois de intensa serie de movimentos, se fixa pelo rostrilho, por algum tempo, á laminula por uma especie de tigmotropismo, e aí executa em torno de seu eixo, uma serie de rapidissimos movimentos rotativos, que interrompe subitamente, ao cabo de algum tempo abandona o ponto a que se fixava e segue em direção qualquer, para mais adiante reproduzir o mesmo fato. Embóra este fenomeno seja observado nos periodos de preencistamento do flajelado, é dificil dizer qual a relação que existe entre um e outro.

Durante o movimento livre não se nota alteração alguma na fórma do protozoario ; quando, porem, se fixa pelo rostrilho á laminula para executar os movimentos acima referidos, ás vezes seu contorno transverso, normalmente circular, aparece, em seção, com a fórma de quadrangulo, irregular, de lados arredondados.

A alimentação da politomela processa-se excluzivamente por via osmotica, porquanto nenhuma abertura bucal, nem tão pouco vacuolos alimentares se notam no protozoario ; muito pouco rezistente ás influencias termicas é o flajelado ; já a 45° cessam seus movimentos, morrendo elle se esta temperatura atúa prolongadamente ou, em pouco tempo, se é elevada a 50°.

A luz não parece influenciar prejudicalmente o protozoario, cujas condições visein Durchmesser ca. 2 μ und seine grösste Breite nicht mehr als 4 μ. Im Innern desselben defindet sich kein Organ, während es an seiner Peripherie die Geisseln durchtreten lässt, welche, wie bereits angegeben, dicht unter demselben entspringen.

BIOLOGIE.

Die Bewegung der *Polytomella agilis* ist in Folge der vier Geisseln, welche sie besitzt, äusserst lebhaft, beschleunigt und wechselvoll ; bald verschiebt sich der Organismus in gerader Linie, bald und noch öfters mit kleinen Abweichungen nach der einen oder anderen Seite, indem er jeden Augenblick seine Richtung ändert. Während der Bewegung vibriert die Geissel fast beständig und dreht sich um ihre Längsaxe.

In alten Kulturen, die einige Tendenz zur Incystierung zeigen, beobachtet man im hängenden Tropfen ein merkwürdiges Faktum ; man sieht nämlich, wie das Flagellat nach einer Reihe von intensiven Bewegungen sich für einige Zeit mit dem Rostellum am Deckglas fixiert (durch eine Art Tygmotropismus) und hier eine Reihe von äusserst raschen Drehbewegungen um seine eigene Axe ausführt ; nach einiger Zeit unterbricht er dieselben plötzlich, verlässt seinen Fixationspunkt und bewegt sich in einer beliebigen Richtung, woselbst sich dieselbe Erscheinung wiederholt. Obwohl man diesen Vorgang in der Periode vor der Incystierung beobachtet, ist es schwierig die Beziehungen zu erklären, welche zwischen den beiden bestehen. Während der freien Bewegungen bemerkt man keine Veränderung der Form des Protozoen ; wenn er sich aber mit dem Rüssel am Deckglas fixiert, um die beschriebenen Bewegungen auszuführen, erscheint er in seinem Querschnitt, der in der Regel rund ist, manchmal in Form eines unregelmässigen Vierecks mit abgerundeten Seiten.

Die Ernährung der *Polytomella* findet ausschliesslich auf osmotischen Wegen statt, da man an derselben weder eine Mundöffnung, noch Nahrungsvakuolen

tais se mantem as mesmas, quer seja exposto ou abrigado della.

O oxijenio é um elemento essencial ao flajelado que morre rapidamente quando delle privado. Nos preparados a fresco, entre lamina e laminula, é nas bordas e em torno ás bolhas de ar que os flajelados se acumulam, daí se movendo com toda a rapidez, ao passo que sucumbem, nos pontos privados de ar, ao cabo de muito pouco tempo.

As cores vitais, o *Neutralrot*, o azul de metilenio etc. não têm influencia sobre o protoplasma ou o nucleo do protozorio quando vivo. Nelle só as granulações do protoplasma se córam e quando a coloração invade a celula é sinal de que esta perdeu a vitalidade.

Os venenos celulares atúam muito violentamente sobre o flajelado; a saponina mata-o quazi instantaneamente, a bile, o oleato e o taurocolato de sodio dissolvem-n'o rapidamente, não deixando intatas senão as granulações do protoplasma. Nenhum vestijio de membrana pode ser visto como reziduo dos flajelados dissolvidos pelos venenos.

DIVIZÃO.

A *Polytomella*, não fazendo exeção aos demais flajelados, se divide lonjitudinalmente. Os fenomenos de divizão têm inicio no nucleo e só quando neste, as fazes já vão um tanto adiantadas é que começa a segmentação do protoplasma. A divizão nuclear da *Polytomella*, incontestavelmente a parte mais interessante do processo de segmentação, dá-se por mitoze, ou melhor, por processo de dupla mitoze em que tomam parte independente, de um lado as porções de cromatina periférica, e de outro o cariozoma sob a ação diretriz comum do centriolo, funcionando como centrozomio de um metazoario.

O carateristico da dupla mitoze é a constituição de cromozomios cariozomicos e

erkennt. Das Tier ist gegen thermische Einflüsse wenig resistent; schon bei 45° hören die Bewegungen auf, wenn diese Temperatur längere Zeit einwirkt; steigt sie auf 50°, so erfolgt dasselbe sehr bald. Das Licht scheint keinen nachteiligen Einfluss zu haben, da die Lebenserscheinungen sich nicht ändern, wenn es demselben ausgesetzt oder im Dunkel gehalten wird.

Der Sauerstoff ist für diesen Organismus ein notwendiges Element, da er bei Mangel desselben rasch abstirbt. In Deckglaspräparaten häufen sich die Individuen an den Rändern und um die Luftblasen an, wobei sie sich mit voller Geschwindigkeit bewegen, während sie an den Punkten, wo sie der Luft beraubt sind, nach kurzer Zeit absterben.

Die zur Vitalfärbung benutzten Farbstoffe: Neutralrot, Methylenblau etc. haben während des Lebens keinen Einfluss auf Protoplasma und Kern. Es färben sich dann nur die Granula des Protoplasmas und wenn die Färbung die Zelle selbst erreicht, ist es ein Zeichen des Absterbens.

Die Zellgifte haben auf den Flagellaten eine sehr heftige Wirkung; Saponin tötet ihn fast augenblicklich, Galle, ölsaures und taurocholsaures Natron lösen ihn rasch auf und lassen nur die Protoplasmagranula unverzehrt. Nach der Anflösung durch die Gifte bleibt keine Spur einer Membran sichtbar.

TEILUNG.

Die *Polytomella* bildet keine Ausnahme unter den Flagellaten und teilt sich längsweise. Die Teilungserscheinungen beginnen am Kerne und erst, wenn sie an diesem einigermassen vorgerückt sind, beginnt die Segmentation des Protoplasmas.

Die Kernteilung der *Polytomella* bildet ohne Zweifel den interessantesten Teil des Teilungspriozesses; sie erfolgt durch Mitose oder richtiger durch einen Vorgang doppelter Mitose, an dem einerseits die peripherischen Chromatinteile, andererseits das Caryosom, von einandern unabhängig, aber unter gemeinsamen Einfluss des Cen-

periféricos que se orientam uns apoz outros em direção aos polos de um mesmo fuzo.

O primeiro indicio da divizão nuclear na *Polytomella* manifesta-se pela dispozição irradiante, em torno ao cariozoma, que tomam as pequenas massas de cromatina, aplicadas á porção interna da membrana e que aparecem então muito nitidas, podendo-se contar até 12 pequenos bastonetes (Est. 3, Fig. 2). Logo em seguida se observa a fragmentação do cariozoma em pequenos bastonetes, cujo numero é dificil de apreciar e que, reunidos á porção de cromatina periférica, formam, no interior do nucleo, de que então dezaparece a membrana, um agrupamento unico onde se não pode distinguir quais os elementos de uma, quais os de outra orijem. (Est. 3, Fig. 2).

Em faze ulterior do processo, os cromozomios orijinais da divizão do cariozoma aparecem com dispozição transversal em filas paralelas, perpendicularmente ás quais vão procurando se orientar os cromozomios perifericos (Est. 3, Fig. 4). Até esta faze nenhum indicio se tem da formação de fuzo; a seguir, porém, aparece constituido um fuzo muito nitido, cujo eixo é formado pelos cromozomios cariozomicos dispostos sob a fórma de pequena faixa, em torno á qual, na parte média, se dispõem constituindo pequena placa equatorial, os cromozomios perifericos ligados aos polos do fuzo por delicados filamentos acromaticos (Est. 3, Fig. 5).

Nestes primeiros periodos do processo de divizão o centriolo é pouco perceptivel e não se póde verificar com clareza as transformações que elle sofre; pelo que, porém, se observa, a seguir, não fica elle inativo e tambem se divide, muito provavelmente por mitoze.

Constitue um periodo mais adiantado do processo de segmentação do flajelado, a divizão da faixa cariozomica da faze precedente, pelo meio, perpendicularmente ao eixo e o afastamento das duas porções que se vão colocar nos pólos do fuzo sob a fór-

triols, teilnehmen, indem letzteres die Funktion des Centrosoms der Metozoen übernimmt.

Die doppelte Mitose kennzeichnet sich durch die Bildung von peripherischen und Caryosom-Chromosomen, welche sich hinter einander anordnen, in der Richtung nach den Polen derselben Spindel; die ersten Anzeichen der Kernteilung äussern sich bei der *Polytomella* durch die strahlige Anordnung, welche die kleinen, der Membran inwendig anliegenden, Chromosomen um das Caryosom annehmen; sie erscheinen dann sehr deutlich und man kann bis zu zwölf kleine Stäbchen zählen (Tafel 3, Fig. 2). Kurz darauf beobachtet man eine Fragmentation des Caryosoms in kleine Stäbchen, deren Anzahl schwer zu erkennen ist; in Verbindung mit derjenigen der peripherischen Chromatinportion, bilden sie im Innern des Kernes, dessem Membran jetzt verschwindet, eine gemeinsame Gruppe, in welcher die Elemente verschiedenen Ursprungs sich nicht unterscheiden lassen. (Tafel 3, Fig. 3).

Dagegen erscheinen bei einer weiteren Phase, die bei der Teilung des Caryosoms gebildeten Chromosomen in tranversaler, von parallelen Reihen gebildeter Anordnung, während sich die peripheren Chromosomen senkrecht zu denselben zu ordnen suchen (Tafel 3, Fig. 4).

Bis zu dieser Phase findet man keine Anzeichen einer Spindelbildung; es folgt nun aber die Bildung einer deutlichen Spindel, deren Axe durch Caryosom-Chromosomen gebildt wird, welche in der Form eines kleinen Bandes geordnet sind, um welches in der Mitte sich die peripherischen Chromosomen zu einer kleinen Aequatorialplatte anordnen, welche mit den Polen der Spindel durch zarte achromatische Fäden verbunden ist (Tafel 3, Fig. 5).

Bei diesen ersten Phasen der Kernteillung ist das Centriol schwer zu erkennen und seine Veränderungen lassen sich nicht deutlich verfolgen; doch zeigen die späteren Beobachtungen, dass es nicht untätig bleibt, sondern sich, wahrscheinlich amitotisch, teilt.

ma de dois pequenos cones, separados entre si por um filamento mais escuro, que é o filamento de união dos centriolos. Nenhuma alteração se nota na placa de cromozomios perifericos (Est. 3, Fig. 6). Os pequenos cones de natureza cariozomica, colocados nos pólos do fuzo, não raro já neste periodo da divizão, perdem essa fórma e aprezentam-se então com o aspéto de pequenas placas polares; geralmente, porém, é esta transformação mais tardía. (Est. 3, Fig. 7).

Percorridas as fazes precedentes, o fuzo que até aqui conservou pequenas dimensões, se alonga bastante, estreitando-se proporcionalmente; as extremidades continuam a ser ocupadas pelas placas ou cones de cromozomios do cariozoma entre as quais se estendem paralelamente, numerozos filamentos acromaticos onde aparecem, então, distribuidos os cromozomios perifericos que formavam a placa equatorial das fazes precedentemente descritas. Neste periodo os centriolos aparecem bem viziveis colocados nas placas polares e continuam ligados um ao outro pelo filamento de união, apenas mais alongados que nas fazes precedentes (Est. 3, Fig. 8).

Em seguida começam os cromozomios perifericos a se dirijir para os pólos do fuzo, junto aos quais, em opozição á placa cariozomica, formam, de cada lado, pequeno agrupamento conico e apenas separado della por pequena zona clara, atravessada por filamentos acromaticos.

Com esta orientação diverjente dos cromozomios perifericos coincide o estreitamento, na parte central do fuzo da faze precedente cujos extremos, afinal, só ficam ligados pelo filamento de união dos centriolos (Est. 3, Fig. 9).

Ao mesmo tempo que se dá o alongamento do fuzo nas fazes precedentes, observam-se os primeiros sinais de tendencia do protoplasma á segmentação e que se manifestam pelo alargamento transversal do flajelado, não tardando a aparecer um pequeno entalhe na porção posterior delle (Est. 3, Fig. 10).

Eine spätere Phase des Prozesses bildet die Teilung des Chromosomenbandes der eben beschriebenen Phase, welche in der Mitte und senkrecht auf seine Axe erfolgt, und das Abrücken der beiden Teile, welche sich nach den Polen der Spindel begeben; sie zeigen dabei die Form zweier kleiner Kegel, welche durch eine dunklere Faser getrennt sind, die der Verbindungsfaser der Centriolen entspricht. An der peripheren Chromosomenplatte ersieht man keine Veränderung (Tafel 3, Fig. 6). Schon in dieser Teilungsphase verlieren die an den Polen der Spindel gelegenen Kegel, die von Caryosomen abstammen, manchmal ihre Form und bieten dann das Bild kleiner Polplatten; gewöhnlich findet aber diese Veränderung erst später statt (Tafel 3, Fig. 7). Nach Vollendung der vorhergehenden Phasen streckt sich die bis dahin kleine Spindel beträchtlich und verschmälert sich dementsprechend; ihre Enden werden noch immer durch die Platten oder Kegel der Chromosomen des Caryosoms eingenommen, zwischen welchen zahlreiche parallele achromatische Fäden verlaufen, auf welchen die peripherischen Chromosomen, welche die eben beschriebene Aequatorialplatte bildeten, verteilt erscheinen. In diesem Augenblick erscheinen die Centriolen deutlich an den Polarplatten lokalisiert und noch immer verbunden durch die Faser, welche nur etwas verdünnt erscheint (Tafel 3, Fig. 8).

Im weiteren Verlaufe begeben sich die peripherischen Chromosomen nach den Polen der Spindel und bilden in der Nähe derselben, der Chromosomplatte entgegengesetzt, auf beiden Seiten eine kleine kegelförmige Gruppe, welche von denselben nur durch eine kleine, von achromatischen Fasern durchsetzte Zone getrennt ist. Mit dieser divergierenden Anordnung der peripheren Chromosomen coincidiert eine centrale Einschnürung der Spindel der vorigen Phase, so dass ihre Enden zuletzt nur durch die Verbindungsfaser der Centriolen vereinigt erscheinen (Tafel 3, Fig. 9).

Gleichzeitig mit der Streckung der

Adiantando-se o processo de divizão, rompe-se o filamento de união dos centriolos e, de cada lado do protozoario, aparecem, então, izoladas as duas porções rezultantes da divizão sucessiva dos elementos do cariozoma e da cromatina periférica, tendo cada uma o seu centriolo e possuindo metade do filamento de união. E' cada vez mais acentuada a divizão do filamento do protoplasma (Est. 3, Fig. 11).

Começam então, daqui por deante, em cada um dos duplos grupos de cariozomas orijinais do nucleo primitivo, os fenomenos de reconstituição nuclear dos dois futuros flajelados, provenientes da divizão do prozoario primitivo. Observa-se, então, que, aos poucos, do cone de cromozomios perifericos se vão desprendendo bastonetes que passam para a pequena zona de separação dos dois grupos de cromozomios (perifericos e cariozomicos) e aí se dispõem sob a fórma de pequena corôa em torno dos elementos de natureza cariozomica. Geralmente nesta faze a divizão protoplasmica já é muito acentuada não restando, afinal senão uma pequena ponte ligando os dois flajelados (Est. 3, Fig. 12 e 13).

Em todo o periodo de divizão até aqui, o flajelado não aprezenta a menor diminuição de mobilidade; é na mais constante movimentação que o processo evolve até o seu termo, notando-se mesmo, nas ultimas fazes, o esforço com que os novos flajelados procuram libertar-se um do outro, por meio de movimentos subitos e muito ativos até que, finalmente, conseguem romper os ultimos liames e ficam livres. Os flajelados recentemente divididos aprezentam, tambem, movimentos muito vivos graças aos dois flajelos com que cada um delles fica munido (Est. 3, Fig. 14).

Uma vez separadas as celulas, nellas se acentúa a reconstituição nuclear. A porção proveniente do cariozoma do nucleo primitivo e que dará orijem a novo cariozoma aumenta vizivelmente de volume, vai-se tornando arrendondada e compacta ao mesmo tempo que os cromozomios perifericos co-

Spindel. Während der vorhergehenden Phasen, beobachtet man die ersten Anzeichen einer Teilungstendenz am Protoplasma, welche sich durch eine queere Verbreiterung des Flagellaten äussern, wobei bald ein kleiner Einschnitt an den hinteren Portionen desselben auftrit (Tafel 3, Fig. 10).

Beim Fortschreiten des Teilungsprozesses zerreisst die Verbindungsfaser der Centriolen und auf jeder Seite des Protozoen erscheinen nun getrennt die beiden Teile, welche aus der successiven Teilung der Elemente des Caryosoms und des peripheren Chromatins hervorgehen, indem jeder sein Centriol und die Hälfte der Verbindungsfaser aufweist; dabei akzentuiert sich die Teilung des Protoplasmas immer mehr (Tafel 3, Fig. 10—13). In den beiden Gruppen der Chromosomen, welche aus dem ursprünglichen Kern hervorgehen, beginnen nun die Erscheinungen der Kernrekonstitution der beiden, von den ursprünglichen Organismus abstammenden, zukünftigen Tiere. Man sieht dann wie allmählig vom Kegel der peripheren Chromosomen sich Stäbchen ablösen und in die schmale Trennungszone der beiden Gruppen von Chromosomen (des Caryosoms und der Peripherie) übertreten und sich dort in Form eines kleinen Kranzes um die Elemente, die vom Caryosom abstammen, anordnen. Gewöhnlich ist in dieser Phase die Teilung des Protoplasmas schon sehr ausgesprochen und nur eine kleine Verbindungsbrücke zwischen den beiden Flagellaten erkennbar (Tafel 3, Fig. 12 u. 13).

Während der ganzen Teilung bis zu dieser Phase, zeigt die *Polytomella* keine Verminderung der Beweglichkeit; der Prozess verläuft bis zum Ende während ununterbrochener Bewegungen und man bemerkt sogar zum Schlusse die Anstrengungen, welche die neue gebildeten Individuen machen, um sich durch rasche und kräftige Bewegungen von einander zu trennen, bis es ihnen schliesslich gelingt, die letzten Verbindungen zu zerreissen und frei zu werden. Nach der Teilung zeigen sie gleichfalls sehr leblafte Bewegungen mit

meçam, aos poucos, a cercal-o, ao passo que, o cone, primitivamente por elles formados diminue vizivelmente de tamanho com a saída dos elementos que o constituiam (Est. 3, Fig. 15).

Não tarda que esse cone dezapareça por completo e os elementos que o constituiam, apareçam então dispostos regularmente na periferia do novo nucleo junto a nova membrana que então se forma para limitar o nucleo. A esse tempo o cariozoma se torna completamente redondo e o nucleo em nada difére do tipo normal; sómente se acha colocado excentricamente no flajelado (Est. 3, Fig. 16). Não tarda, ainda que elle venha tomar a sua pozição normal no centro da celula e que deste módo terminem os fenomenos nucleares do processo de divizão.

Sucede, agora, a multiplicação dos flajélos que se parece dar pela divizão direta dos dois corpusculos bazais do protozoario, ficando um com um flajelo e dando o outro orijem a um elemento semelhante. Desta fórma, em breve, tem o protozoario adquirido o numero normal de organs locomotores e, assim, com a reconstituição do nucleo e rejeneração dos flajelos termina o processo de divizão do flajelado.

COPULAÇÃO.

A copulação dos flajelados não é fenomeno muito comumente observado, em muitas fórmas; naquellas mesmas em que em maior abundancia proliferam nas culturas é ella desconhecida.

A *Polytomella agilis*, não fazendo excepção á regra, só muito raramente entra em copulação. O fenomeno só é observado nas culturas já antigas e muito abundantes; ainda nestas, o numero de fórmas que entra em copulação nunca é muito grande o que dificulta sobremodo a pesquiza dos diferentes estádios nos preparados fixados nos quais sómente é possivel observar as particularidades ultimas do processo sexual. Os elementos que entram em copulação não aprezentam diferenças sexuais perceptiveis

Hülfe der beiden Geisseln, welche jedem von ihnen verbleiben (Tafel 3, Fig. 14).

Nach Trennung der Zellen zeigt sich die Rekonstitution des Kernes immer mehr. Der Anteil, welcher von dem Caryosom des primitiven Kernes abstammt und den Ursprung des neuen Caryosoms bildet, wächst sichtlich an Umfang, rundet sich ab und verdichtet sich, während die peripheren Chromosomen ihn allmählig umgeben und der ursprünglich von ihnen gebildete Kegel durch Auswanderung seine Bestandteile sichtlich abnimmt (Tafel 3, Fig. 15).

Bald verschwindet er vollständig und seine Bestandteile erscheinen dann regelmässig geordnet an der Peripherie des neuen Kernes und im Innern der neuen begrenzenden Membran. Jetzt ist auch das Caryosom vollständig rund geworden und der Kern weicht vom normalen Typus nur dadurch ab, dass er excentrisch liegt (Tafel 3, Fig. 16). Doch nimmt er bald darauf seine normale Stellung im Centrum der Zelle ein, womit die sich am Kerne abspielenden Erscheinungen des Teilungsprozesses vollendet sind.

Es findet hierauf die Vermehrung der Geisseln statt, anscheinend durch direkte Teilung der beiden Basalkörperchen, wobei das eine die Geisseln behält und das andere eine neue erzeugt, sodass bald darauf der Organismus die Normalzahl von Bewegungsorganen erhält und dergestalt mit Rekonstitution des Kernes und Regeneration der Geisseln der Teilungsprazess zum Abschluss kömmt.

KOPULATION.

Die Kopulation der Flagellaten ist keine häufige Erscheinung und ist bei vielen Formen — auch solchen, die sich in den Kulturen sehr stark vermehren — nicht bekannt. Auch hier bildet die *Polytomella agilis* keine Ausnahme, indem sie nur selten eine Kopulation eingeht. Die Erscheinung wird nur bei alten und sehr reichlichen Kulturen beobachtet und selbst dann ist die Zahl der kopulierenden Paare nie sehr

entre si, são porém, em geral, menores que as demais fórmas das culturas. E' provavel, até certo ponto, que esta diferença de tamanho, corresponda a um estado de depressão da celula, o que muito déve auxiliar as manifestações sexuais do protozoario.

A parte grosseira do fenomeno póde ser facilmente acompanhada ao microscopio ; quanto, porém, ás alterações nucleares de que ella se segue, só em preparações fixadas e córadas podem ser observadas em seus intimos pormenores.

Estudada em gota pendente a copulação aprezenta as seguintes fazes : A principio, observa-se que certo numero de flajelados da mesma cultura como a se procurarem com certa insistencia ; tocam-se e afastam-se a cada momento uns dos outros, até que, depois de por algum tempo repetirem esse manejo, dois delles se encontrando nas condições necessarias á realização da copulação se fixam um ao outro, pelas porções laterais anteriores, tomando o aspéto de uma fórma de divizão em periodo adiantado, quando os flajelados já procuram separar-se um do outro. Ao contrario, porém, do que acontece na divizão, aqui o que se observa é cada vez mais intima e igual fuzão dos protozoarios ; rapidamente a figura de copulação toma a fórma de elipse larga e curta, em cujo eixo maior, ao começo, ainda se observam vestijios da separação entre os flajelados, que não tardam a dezaparecer. Fundindo-se afinal por completo os gametas, o zigoto aprezenta-se com a fórma esférica.

Durante as fazes da copulação anteriormente referidas, pouco a pouco vai diminuindo a mobilidade até dezaparecer por compléto, algum tempo apoz a constituição do zigoto, quando dezaparecem os flajelos, tornando-se a celula imovel.

Depois que os flajelados, por completo, se têm fundido, observa-se o aparecimento em torno ao zigoto de uma delgada membrana que aos poucos se espessa, ocorrendo então o encistamento delle. A parte do ato sexual, acima descrita, é aquella que a

gross, wodurch die Erforschung der verschiedenen Stadien an fixierten Präparaten (bei welchen allein die feineren Einzelheiten erkannt werden können) sich ausserordentlich erschwert. Die kopulierenden Individuen zeigen keine Geschlechtsunterchiede, sind jedoch im Allgemeinen kleiner als die übrigen Kulturformen. Es ist bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich, dass ein solcher Grössenunterschied einem Depressionszustande der Zelle entspricht, welcher zum Auftreten der Grschlechtserscheinungen bei den Protozoen besonders beitragen soll.

Die gröberen Erscheinungen können leicht unter dem Mikroskope verfolgt werden ; dagegen lassen sich die Veränderungen an den Kernen in ihren feinsten Einzelheiten nur an fixierten und gefärbten Präparaten erkennen.

Im hängenden Tropfen studiert, beobachtet man, dass in derselben Kultur eine Anzahl Flagellaten sich mit einer gewissen Beständigkeit aufzusuchen scheinen ; sie berühren sich jeden Augenblick und trennen sich wieder, bis, nach öfterer Wiederholung dieses Spieles, zwei derselben die notwendigen Bedingungen zur Realisierung der Kopulation erreichen und sich mit einander durch die seitlichen Partien der Vorderenden vereinigen und so das Bild einer vorgeschrittenen Teilungsform bieten, wenn die Flagellaten von einander loszukommen suchen. Im Gegensatz dazu beobachtet man jedoch eine immer innigere und gleichmässigere Verschmelzung der Protozoen ; bald nimmt das Paar eine kurze und dicke Eiform an, in deren Längsaxe anfangs noch Spuren der Trennung erkennbar sind, welche aber auch baldigst verschwinden ; indem so endlich die Gameten vollständig verschmelzen, zeigt der Zygote eine kugelige Form.

Während der soeben beschriebenen Kopulationsphasen nimmt die Beweglichkeit der Individuen allmählig ab und hört schliesslich einige Zeit nach Bildung der Zygoten, vollständig auf, indem die Geisseln verschwinden, wodurch die Zelle unbeweglich wird.

observação permite verificar nas preparações a fresco. As fazes nucleares do fenomeno, essas só em material fixado e córado podem ser pesquizadas em seus delicados pormenores.

Aqui tambem a *Polytomella agilis*, não fazendo exceção aos demais flajelados quando entram em copulação, aprezenta como fenomenos nucleares mais caraterísticos reduções que precedem a fuzão dos nucleos.

Tanto quanto a nossa observação permite afirmar, a redução nuclear parece efetuar-se por um mecanismo de divizão heteropolar, com a formação de fuzo com dezigual distribuição de cromozomios de modo bastante semelhante ao que Dobell (Quart. Journ. of Micr. Sc. Vol. 52, pag. 1) descreve na *Copromonas subtilis*.

A redução começa, ora em fazes muito adiantadas da copulação, ora nos periodos iniciais da fuzão celular e tambem não ocorre ao mesmo tempo, em ambos os nucleos.

Tambem na *Polytomella agilis* como sucede no *Copromonas subtilis* só conseguimos observar e emissão de um corpusculo de redução que aparece ligado por um filamento acromatico ao resto do nucleo, porém que não tarda a se separar delle e a dezaparecer no protoplasma da celula. Os nucleos reduzidos se aproximam, então, um do outro e não demoram a se fundir um com o outro intimamente, terminando-se assim as fazes nucleares da copulação de que as Fig. 17—20 da Est. 3 exemplificam algumas das fazes.

ENCISTAMENTO.

O aparecimento de cistos nas culturas da *Polytomella* é muito precoce. Começam a ser vistos desde os primeiros dias de cultura, quando ainda os flajelados proliferam abundantemente, e nas melhores condições de nutrição do meio, não são, portanto, devidos a condições desvantajozas deste, mas, antes, á necessidade e um pe-

Nach vollständiger Verschmelzung der Paare, bemerkt man um die Zygoten eine dünne Membran, die sich allmählich verdickt und zur Incystierung führt. Meine Beschreibung entspricht demjenigen Anteile des Sexualaktes, der sich an frischen Präparaten verfolgen lässt. Die Erscheinungen an den Kernen können in ihren feineren Einzelheiten nur an fixiertem und gefärbtem Materiale studiert werden. Hier zeigt die *Polytomella agilis*, ebenfalls in Ueberstimmung mit der Kopulation anderer Flagellaten, als besonders charakterische Erscheinung eine Kernreduktion als Vorläufer der Kernverschmelzung.

Soweit ich aus meinen Beobachtungen schliessen darf, erfolgt die Kernreduktion durch heteropolaren Teilungsmechanismus, unter Bildung einer Spindel mit ungleicher Chromosomenverteilung, ähnlich wie sie Dobell bei der *Copromonas subtilis* beschrieb (Dobell, *Quart. Journ. of Mikrosc. Sc.*, vol. 25, pag. 1).

Die Reduktion beginnt bald in sehr vorgeschrittenen Phasen der Kopulation, bald in den Anfangsperioden der Zellfusion und findet auch in den beiden Kernen nicht gleichzeitig statt.

Wie es bei der *Copromonas subtilis* der Fall war, so konnte ich auch bei der *Polytomella agilis* nur die Ausstossung eines Reduktionskörperchens beobachten, welches durch eine achromatische Faser mit dem Reste des Kernes verbunden erscheint, sich jedoch bald von demselben trennt und im Protoplasma der Zelle verschwindet.

Es nähern sich dann die reducierten Kerne, um bald vollständig zu verschmelzen; dies bildet den Abschluss der Kernerscheinungen bei der Kopulation, von welchem die Fig. 17-20 der Tafel 3 einige Beispiele geben.

INZYSTIERUNG.

Die Erscheinung von Zysten in den Kulturen der *Polytomella* ist eine sehr frühzeitige; sie fangen schon in den ersten Tagen an aufzutreten, wenn die Flagellaten sich in den Kulturen noch reichlich

riodo de repouzo apoz uma faze das mais favoraveis condições vitais.

Os flajelados com tendencia ao encistamento se caraterizam pelo aumento progressivo dos microgranulos do protoplasma que, aos poucos, vão enchendo todo o corpo do flajelado e encobrindo quazi o nucleo. Nota-se, então, nestas fórmas grande tendencia aos movimentos tigmotropicos anteriormente descritos. (Est. 3, Fig. 21). Aos poucos, o flajelado vai perdendo a fórma ovoidal e tornando-se eliptico ; os flajelados desprendem-se uns apoz outros, encontrando-se facilmente fórmas com 1, 2 ou 3 desses organs. Começa, já, então a observarem-se vestijios de delgada membrana cercando a celula. (Est. 3, Fig. 22). Em periodo mais adiantado dezaparecem por completo os flajelos, o flajelado toma uma fórma quazi regularmente esférica, o nucleo então quazi dezaparece sob a quantidade de microgranulos agóra acumulados uns juntos aos outros. A membrana torna-se mais nitida em volta da celula.

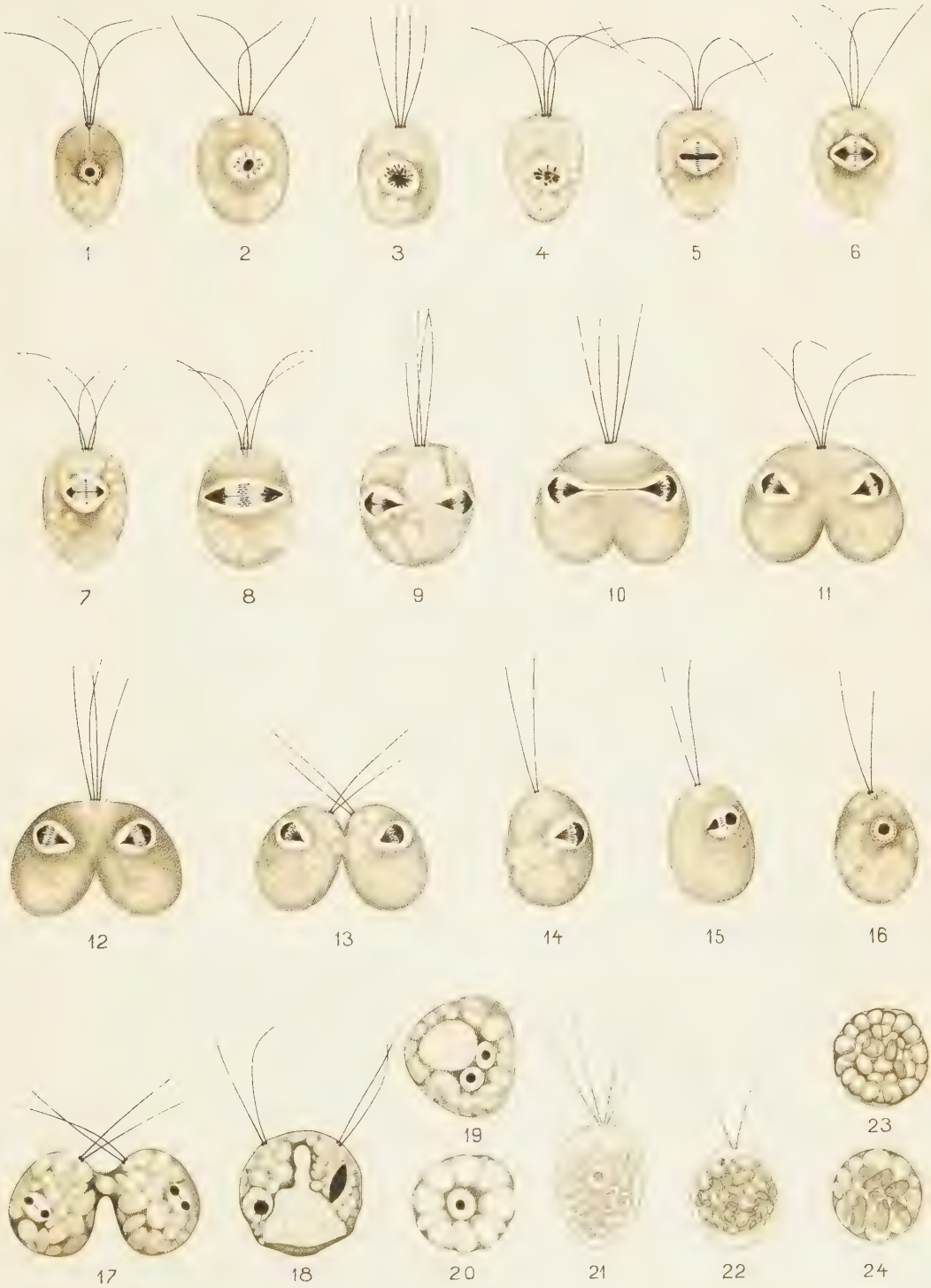
Não tarda o cisto a ficar completamente constituido ; aprezenta, então, uma fórma muito regularmente circular e é cercado por uma membrana muito nitida de duplo contorno e seu interior é ocupado pelo nucleo do protozoario dificilmente perceptivel sob os microgranulos dispostos uns ao lado dos outros. O cisto méde, então, 8 μ de diametro, em média, e tem um colorido amarelo claro. (Est. 3, Fig. 23 : cisto apoz fixação) e 24 (cisto visto a fresco).

Sobre a evolução do protozoario neste cisto nada podemos dizer por emquanto, apezar das tentativas para observal-o, nenhum sucesso lográmos alcançar. E' certo, porém, que grande numero destes cistos quando transportados para novo meio de cultura não dão lugar á saída de novo flajelado, elles dejeneram os microgranulos se fundem uns com os outros em massas irregulares que saem do cisto com a rutura da membrana em um ponto qualquer.

Os microgranulos que fóra do cisto tão facilmente se córam, uma vez cercados

vermehren und diese noch die besten Ernährungsbedingungen bieten. Sie sind also nicht eine Folge ungünstiger Bedingungen, sondern eher der Notwendigkeit einer Ruheperiode nach einer Phase günstiger Lebensbedingungen.

Die Tendenz zur Inzystierung kennzeichnet sich bei den Flagellaten durch allmähliche Zunahme der Mikrogranula im Protoplasma, welche allmählich den ganzen Zellleib erfüllen und den Kern fast verdecken. Man bemerkt alsdann an diesen Formen eine grosse Tendenz zu tygmotropischen Bewegungen, wie sie oben beschrieben wurden (Tafel 3, Fig. 21). Nach und nach verliert der Flagellat seine Eiform und wird länglich. Die Geisseln lösen sich successive ab, so dass man leicht Formen mit einer, zwei oder drei derselben findet. Es beginnt alsdann das Auftreten einer Andeutung einer dünnen Membran um die Zelle (Tafel 3, Fig. 22). In einem vorgerückteren Stadium sind die Geisseln völlig verschwunden und die Form ist fast regelmässig kugelig, während der Kern unter den angehäuften kleinen Körnern fast verschwindet. Die die Zelle umgebende Membran erscheint immer deutlicher. Bald wird die Zyste vollständig ausgebildet und zeigt alsdann eine regelmässig runde Form, von einer sehr deutlichen, doppelkonturierten Membran umgeben, während das Innere von dem Kerne eingenommen wird, der unter den aneinander gelagerten Mikrogranulis schwer erkennbar ist. Die Zyste misst dann 8 μ in mittlerem Durchmesser und zeigt eine hellgelbe Färbung. Ueber die Entwicklung des Protozoen in dieser Zyste kann ich nichts aussagen, da meine Versuche, sie zu beobachten, kein Resultat gaben ; es ist jedoch sicher, dass eine grosse Zahl dieser Zysten bei Uebertragung ín neue Nährlösungen keine Flagellaten austreten lassen ; sie degenerieren und die Mikrogranula verschmelzen gegenseitig zu unregelmässigen Massen, welche durch Ruptur der Membran an einer beliebigen Stelle aus der Zyste austreten. Die Mikrogranula, welche sich ausserhalb der Zysten leicht färben lassen, widerstehen, nach-


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

da membrana completamente constituida, rezistem á influencia do iodo, do *Neutralrot*, do azul de metilenio etc. Tem-se mesmo completa certeza de que um cisto está definitivamente constituido pela rezistencia que oferece á penetração de tais substancias.

A membrana do cisto é extraordinariamente rezistente aos ajentes fizicos e quimicos. Não têm a menor influencia sobre ella, modificando-a ou dissolvendo-a, o aquecimento, o alcool, o éter, o cloroformio, o xilol, os acidos cloridrico, acetico e azotico, mesmo em forte concentração e o reativo de SCHWEITZER.

Os cistos provenientes da copulação distinguem-se dos precedentes, principalmente pelo menor numero de microgranulos nelles existentes. Quanto á sua evolução ulterior nada podemos dizer por emquanto; nunca tivemos ocazião de observal-a.

DEJENERAÇÃO.

Nas culturas antigas do protozoario não raro se observa o aparecimento de fórmas de dejeneração atinjindo, tanto o protoplasma, como o nucleo. Uma dessas alterações mais frequentemente observada é o aparecimento de flajelados, aprezentando grande vacuolo não pulsatil, tomando todo o espaço entre o nucleo e a orijem dos flajelos. Outro indicio de degradação celular é o aparecimento de fórmas alongadas terminadas em ponta aguda e, nas quais, não raro, se manifestam divizões protoplasmicas deziguais e que geralmente são dificies de fixar e que tambem se córam irregularmente.

Tanto em uma, como em outra, destas fórmas de dejeneração se encontra muito comumente o nucleo fragmentado em dois pedaços colocados um ao lado do outro, ou um pouco separados, simulando uma fórma de conjugação, em periodo de fuzão nuclear.

dem sie von einer vollständig ausgebildeten Membran umschlossen sind, dem Einfluss von Jod, Neutralrot, Metylenblau etc; man kann sogar aus der Resistenz, welche sich dem Eindringen dieser Substanzen bietet, die absolute Sicherheit der vollständigen Ausbildung der Zysten erhalten.

Die Zystenmembran ist gegen physikalische und chemische Agentien ausserordentlich resistent; Erhitzung, Alkohol, Aether, Chloroform, Xylol, Salz-, Essig- und Salpetersäure, selbst in starker Konzentration, und auch das Reagens von SCHWEIZER haben nicht den geringsten Einfluss auf dieselbe, weder im Sinne einer Veränderung, noch in demjenigen einer Auflösung.

Die Zysten, welche nach der Kopulation auftreten, unterscheiden sich von den anderen durch die kleinere Anzahl der darin enthaltenen Mikrogranula. Ueber ihre weitere Entwicklung kann ich nichts aussagen, da ich niemals Gelegenheit hatte, eine solche zu beobachten.

DEGENERATION.

In allen Kulturen der Protozoen beobachtet man nicht selten das Auftreten von Degenerationsformen, welche sowohl das Protoplasma, wie den Kern betreffen. Eine der häufigsten Veränderungen besteht im Auftreten von Flagellaten, welche eine grosse, nicht pulsierende Vakuole zeigen, die den ganzen Raum zwischen Kern und Ursprungstelle der Geisseln ausfüllt. Ein anderes Anzeichen der Zelldegeneration liegt im Vorkommen von verbreiterten Formen, die mit einer scharfen Spitze endigen und in welchen sich nicht selten ungleiche Protoplasmateilungen zeigen, die sich gewöhnlich schwer fixieren lassen und sich auch unregelmässig färben. Sowohl bei der einen, wie bei der anderen Degenerationsform findet man sehr häufig den Kern in zwei Fragmente zerfallen, welche neben einander oder etwas getrennt liegen und eine Konjungationsform in der Periode der Kernverschmelzung vortäuschen.

Notas dipterolojicas

PELO

Dr. Adolpho Lutz.

Dipterologische Notizen

VON

Dr. Adolph Lutz.

I.

«Habitat» e tempo de aparecimento da «Diatomineura longipennis Ricardo».

Debaixo do nome citado no titulo Miss RICARDO descreveu uma *pangonina* ainda não denominada; esta lembra na sua aparencia as especies do genero *Diclisa* SCHINER, mas não póde neste ser colocada por cauza da dispozição diferente das nervuras das azas. Comquanto difira consideravelmente no seu habito total das outras especies indijenas de *Diatomineura*, será preferivel conserval-a neste genero até que a constatação de outras especies parecidas indique a necessidade do estabelecimento de novo genero.

O exemplar descrito do British Museum provem do Estado do Espirito Santo; dous exemplares da minha coleção eram de procedencia desconhecida. Não se conhecendo outros, podia-se julgar que se tratava de especie rara, mas a experiencia mostra que as outras pangoninas em tempo e logar apropriado se acham quazi sempre em numero maior, ás vezes muito grande. Esta especie tambem não faz exceção, com rezulta do seguinte:

No principio de Julho de 1909 este

I.

Vorkommen und Flugzeit von Diotomineura longipennis Ricardo.

Unter dem in Titel erwähnten Namen hat Miss RICARDO eine bisher unbenannte Pangonine beschrieben, die zwar in ihrem Aeusseren sehr an Arten des Genus *Diclisa* SCHINER erinnert, aber wegen ihres abweichenden Flügelgeäders nicht in dasselbe gestellt werden kann. Trotzdem sie in ihrem gesammten Habitus von den anderen hiesigen Arten des Genus *Diatomineura* erheblich abweicht, wird sie doch am besten in demselben belassen, bis das Auffinden ähnlicher Arten das Abgrenzen einer neuen Gattung wünschenswert macht.

Das beschriebene Exemplar aus dem British Museum stammte aus dem Staate Espirito Santo; zwei Exemplare meiner Sammlung waren unbestimmter Herkunft. Da weitere nicht bekannt waren, konnte man die Species für selten halten, doch lehrt die Erfahrung an anderen Pangoninen, dass sie zur richtigen Zeit und am richtigen Orte fast stets in mehreren, oft in sehr zahlreichen Exemplaren erbeutet werden können. Hiervon macht auch diese Art keine Ausnahme, wie aus Folgendem ersichtlich ist:

Anfangs Juli 1909 erhielt Dr. Os-

Instituto, recebeu do Dr. GURGEL DO AMARAL uma pequena remessa de tabánidas, apanhados no fim de Julho em Alfenas (Sul de Minas). Ao lado de alguns exemplares de *Erephopsis sorbens* WIED. (especie comum, encontrada tambem no inverno em pequeno numero) esta só continha *D. longipennis*. Durante o mez de Julho obteve outras remessas chegando o numero de exemplares da mesma especie a mais de 30. Disto se póde concluir que esta mutuca é bastante frequente naquela zona.

O que chama especialmente a atenção é o tempo em que se observou, coincidindo com a maior intensidade do nosso inverno que costuma trazer uma diminuição consideravel dos insetos. E' verdade que a *Diatomineura tabanipennis* MACQ. já se observa neste mez, mas isto se dá geralmente no litoral mais quente, emquanto que a *Neopangonia pusilla* LUTZ é encontrada em São Paulo apenas no principio da estação fria. De mais, nesta zona durante o inverso só se encontram poucos exemplares de *E. sorbens* e das especies mais comuns de *Tabanus* e *Chrysops* que todos se tornam mais frequentes na primavera. E' verdade que Alfenas está situada mais para o Norte, na altura do Sul do Espirito Santo, mas tem tambem elevação consideravel, de modo que o aparecimento frequente da *D. longipennis* reprezenta sem duvida uma particularidade da especie, como fica provado tambem pela compozição das varias remessas. Em varios lugares, Agosto é considerado o mez da mutuca, no obstante só trazer poucas especies, ao passo que a maioria d'ellas só aparece de Novembro para Fevereiro. Até agora, julguei que esta noção se referia principalmente a *E. sorbens* que chama a atenção pelo seu tamanho, grossura, tromba muito comprida e zunido forte, mas agora julgo possivel que se refere tambem em parte a *D. longipennis*, que procurada nesta estação, será talvez encontrada, tambem, em outros lugares com alguma frequencia.

WALDO CRUZ, Direktor dieses Institutes, von Dr. GURGEL DO AMARAL eine kleine Sendung von Tabaniden, welche derselbe Ende Juli in ALFENAS im Süden des Staates MINAS gesammelt hatte. Dieselbe enthielt neben einigen Exemplaren der gemeinen und vereinzelt auch im Winter fliegenden *Erephopsis sorbens* WIED. nur *D. longipennis*; während des Julis kamen mehr Sendungen, bis mehr wie 30 Exemplare derselben Species vorlagen. Man kann daraus schliessen, dass die Art in dieser Zone nicht selten ist.

Besonders fällt aber die Flugzeit auf, die mit der Höhe des hiesigen Winters zusammenfällt, in welchem das Insektenleben sehr zurückgeht. Allerdings fliegt auch die *Diatomineura tabanipennis* MACQ. schon zu dieser Jahreszeit, doch ist dies hauptsächlich in den wärmeren Küstenstrichen der Fall, während *Neopangonia pusilla* LUTZ bei S. Paulo ganz zu Anfang des Winters auftritt. Sonst werden daselbst im Winter neben einer geringen Zahl der gemeinsten Tabanus- und Chrysops-Arten nur vereinzelne Exemplare von *E. sorbens* getroffen, die alle gegen den Frühling zu häufiger werden. Allerdings liegt ALFENAS bedeutender nördlicher, der Breite des Südens von Espirito Santo entsprechend, aber doch ebenfalls ziemlich hoch, sodass entschieden das häufige Vorkommen von *D. longipennis* als Eigentümlichkeit der Species angesehen werden muss, was ja auch die Zusammensetzung der Sendungen beweist. In manchen Gegenden gilt der August als Bremsenmonat, obgleich derselbe nur wenige Arten aufweist, während die grosse Mehrzahl derselben erst im November bis Februar auftritt. Bisher hatte ich die Klage über die Bremsen im August hauptsächlich auf *E. sorbens* bezogen, die durch Grösse, Dicke, langen Rüssel uns starkes Gesumme sich der Beobachtung aufdrängt; doch wäre es nach dieser Beobachtung nicht unmöglich, dass sie sich auch zum Teil auf *D. longipennis* beziehen, welche vielleicht bei Berücksichtigung der Flugzeit auch anderswo häufiger gefunden werden wird.

II.

Existencia de exemplares melanoticos de « Sarcophaga » e « Stomoxys ».

Ao passo que no genero *Sarcophaga* as moscas aprezentam o abdome tesselado, no genero vizinho *Phrissopoda* tem este a côr metalica ou preta uniforme. Por isso, podia-se considerar a existencia em certos exemplares de um abdome sem dezenho tesselado e completamente preto como carater de genero ou de especie, como tambem o fiz outrora com uma *Sarcophaga* que hoje não tenho á mão. Rezulta de observações posteriores que este modo de pensar não é necessariamente correto; pelo contrario, trata-se pelo menos em certos cazos, de variedades melanoticas.

Parece-me que tais variedades se encontram tambem no genero *Stomoxys* reprezentado entre nós apenas pela especie, cosmopolita e sem duvida introduzida, *Stomoxys calcitrans*. E' verdade que WIEDEMANN descreve mais duas especies do Brazil e outras da America do Sul; mas as suas observações sobre a existencia de outras especies lejitimas de *stomoxys* nestes territorios não acharam nova confirmação e eu não podia ter deixado de encontrar entre nós estas moscas, se atacavam homens e cavalos. De outro lado, obtive dous exemplares apanhados juntamente com a forma normal, dos quais um é muito escuro e outro tem o abdome de côr preta intensa, sem vestijio de manchas. Esta coloração não se explica satisfatoriamente pela absorção de sangue e não corresponde a especie descrita.

Tendo apanhado ha pouco uma grande *Sarcophaga* do sexo feminino, de torax escuro e abdome completamente preto, procurei uzal-a para criação. Esta se póde obter com facilidade pela expressão do abdome que na maioria das femeas contem larvas vivas. Dispoem-se sobre um

II.

Das Vorkommen melanotischer Exemplare von Sarcophaga und Stomoxys.

Während beim Genus *Sarcophaga* die Fliegen einen gewürfelten Hinterleib zeigen, soll bei dem nahestehenden Genus *Phrissopoda* der Hinterleib bald von einförmiger metallischer Farbe, bald schwarz gefärbt sein. Das Vorkommen von Stücken mit völlig schwarzem Hinterleibe, ohne Spur von Würfelung, liesse sich demgemäss als Genus- oder Speciescharacter auffassen, wie ich das früher bei einem Exemplare tat, welches mir jetzt leider nicht zur Hand ist. Im Lichte einiger seither gemachter Erfahrungen erscheint jedoch diese Auffassung nicht ohne Weiteres berechtigt; vielmehr handelt es sich wenigstens in einem Teile der Fälle um melanotische Varietäten.

Auch bei Stomoxys kommen, wie es scheint, solche Varietäten vor. Dieses Genus ist hier, soweit ich aus eigener Erfahrung schliessen darf, nur durch die zweifellos eingeführte, cosmopolitische *Stomoxys calcitrans* vertreten. Allerdings beschreibt WIEDEMANN noch zwei Arten aus Brasilien und andere aus Südamerika, aber es fehlt an neueren Bestätigung des Vorkommens anderer echter *Stomoxys*arten in diesen Gebieten; auch könnten mir solche hierzulande kaum entgangen sein, wenn sie Menschen oder Pferde angriffen. Nun besitze ich zwei zugleich mit der Normalform gefangene Exemplare, von denen das eine nur sehr dunkel ist, das andere dagegen einen intensiv und rein schwarzen, weder gewürfelten, noch glänzenden Hinterleib besitzt. Durch aufgenommenes Blut lässt sich die Färbung keineswegs befriedigend erklären; ebensowenig aber entspricht sie einer beschriebenen Art.

Als ich nun vor einiger Zeit ein sehr grosses *Sarcophaga*weibchen mit dunkelm Thorax und kohlschwarzem Hinterleibe fing, verwendete ich dasselbe zur Zucht. Dieselbe gelingt oft sehr leicht, weil man bei den meisten Weibschen durch Auspressen lebende Larven erhält; man legt diese

pedaço de carne crua as larvas que o penetram ; depois de coberto com serragem, este é conservado num vazo de cultura. Nestas condições todas as larvas se dezenvolvem rapidamente e a metamorfoze se consuma depressa e com rezultado certo. Assim sucedeu tambem nesta experiencia seguindo-se a estadía larval de uma semana outra de ninfa com duração de cerca de 15 dias. Ao fim destes, obtive 8 moscas normais sendo 4 machos e 4 femeas ; mostravam o abdome normalmente tesselado, sem vestijio de melanismo, e foram determinadas como *Sarcophaga tesselata* Wied. Assim fica provado que a côr da mosca era anormal ; não podia ser explicada pelo alimente injerido, nem por algum processo morbido ou infeciozo e por isso deve ser considerada como melanismo. O mesmo se ha de ter dado nos cazos acima referidos de outros exemplares de *sarcophaga* e *stomoxys*.

III.

Especies de « Sarcophaga » de São Paulo.

Por varios anos colecionei em São Paulo especies de *Sarcophaga*, seja no ar aberto, uzando, ás vezes, para este fim carne crua e animais mortos, seja revistando diariamente janellas bem colocadas, onde entre muitas outras moscas, costumavam aparecer os dous sexos de muitas especies de *sarcophaga*. Obtive tambem material de Petropolis do Snr. J. G. Foetterle e do Rio de Janeiro onde colecionei ultimamente, achando, em geral, as mesmas especies. A determinação feita por mim e em parte por um dipterolojista conhecido não satisfez cabalmente. As razões que dificultam a determinação das especies numerozas e bastante parecidas entre si, comparando-as com as descrições existentes, já se acham expostas na *Fauna austriaca* de Schiner que procurou uzar para a chave das especies por elle descritas carateres anatomicos, como a dispozição das cerdas e espinhos en-

auf ein Stück rohes Fleisch, welches nach dem Eindringen der Larven mit Sägespänen bedeckt, in einem passenden Behälter gebracht wird. Unter diesen Bedingungen entwickeln sich die Larven gewöhnlich vollzählig und die Metamorphose geht rasch und sicher von statten. So war es auch diesmal. Auf ein Larvenstadium von einer Woche folgte eine Puppenruhe von ca. vierzehn Tagen. Am Ende derselben erhielt ich je vier vollständig normale Männchen und Weibchen, nach meiner Bestimmung zu *Sarcophaga tesselata* Wied. gehörig, welche alle einen normal gewürfelten Hinterleib und keine Spur von Melanismus zeigten. Es kann demgemäss nicht bezweifelt werden, dass die Färbung der Mutter eine abnorme war ; doch war dieselbe weder durch die aufgenommene Nahrung, noch durch einen Krankheits-, resp. infektiösen Process zu erklären und muss daher wohl als Melanismus angesprochen werden ; dasselbe hat dann wohl auch von den anderen angeführten Sarcophaga- und Stomoxysexemplaren zu gelten.

III.

Sarcophagaarten aus São Paulo.

Siet einer Reihe von Jahren habe ich in São Paulo *Sarcophaga*arten gesammelt, teilweise im Freien, besonders durch Auslegen von Köder, namentlich aber durch regelmässiges Untersuchen gut gelegener Fenster, wo sich unter zahlreichen anderen Fliegen auch *Sarcophaga*arten beider Geschlechter einzufinden pflegen. Durch Herrn J. G. Foetterle erhielt ich auch Material aus Petropolis und sammelte auch welches in Rio, wobei im ganzen dieselben Arten gefunden wurden. Die Bestimmung nahm ich teils selbst vor, teils liess ich sie durch einen bekannten Dipterologen vornehmen, war aber mit dem Resultate in beiden Fällen nicht sehr zufrieden. Die Gründe, warum es so schwierig ist, die zahlreichen und sich durchschnittlich sehr ähnlichen Arten nach den vorliegenden Beschreibungen zu bestimmen, finden sich schon in der *Fauna austriaca* von Schiner

contrados nas nervuras das azas. O mesmo sistema foi adotado por VAN DER WULP na *Biologia Centraliamericana*. Infelizmente, as especies numerozas das quais elle dá os carateres anatomicios procedem do Mexico, muitas vezes de lugares bastante elevados e parece que são quazi todas diferentes das nossas. Tambem a definição pelos carteres anatomicos nem sempre é facil ; preciza-se de material bom e bastante abundante dos dous sexos, obtendo-se este mais facilmente pela criação, da qual me servi em alguns cazos. Assim, aprende-se a apreciar o significado da coloração e do dezenho, sempre necessarios para uma determinação rapida, e das suas variações, e a distinguir o tamanho normal dos exemplares frequentes de grandeza exajerada ou muito reduzida.

WIEDEMANN descreveu numerozas especies de *sarcophaga* procedentes do BRAZIL e em parte mesmo de SÃO PAULO não se conhecendo exatamente a proveniencia das outras. MACQUART acrecentou algumas especies, nem todas novas ; tambem SCHINER publicou, do material da viajem do *Novara* algumas descrições, parecendo-me que se não descobriram outras especies depois delle. Rezulta da comparação com a minha coleção que existem especies indeterminadas, mas não convem descrevel-as antes de ter bem estudado as que já foram descritas.

Sobre a distribuição das varias especies, — circunstancia de utilidade para a determinação — ha pouca couza de conhecido ; ao lado de especies muito espalhadas como a *S. chrysostoma* e a *S. georgina*, parece haver outras de *habitat* mais restrito. A introdução de fórmas novas afigura-se bastante facil em vista dos seus habitos e da sua evolução rapida. Algumas especies parecem aproximar-se das *Tachinae*

auseinandergesetzt, welcher daher auch beim Schlüssel der von ihm beschriebenen Arten anatomische Merkmale (Bedornung der Flügeladern, Chaetotaxis) anwendet. Ihm ist darin VAN DER WULP in der *Biologia Centraliamericana* gefolft. Leider stammen die sehr zahlreichen von ihm anatomisch genau charakterisierten Arten sämmtlich aus Mexico, meist aus bedeutenden Höhen und scheinen fast alle von den hiesigen verschieden. Uebrigens ist die Bestimmung nach anatomischen Merkmalen auch nicht immer ganz leicht und sie erfordert ebenfalls gutes (und womöglich reichliches) Material beider Geschlechter, was man am besten durch Zucht der betreffenden Arte erhält, wie ich sie allerdings nur bei einem Teile derselben ausgeführt habe. Dann lernt man den Wert der Farbenzeichnung, welche für eine rasche Bestimmung immer massgebend sein wird, und ihre Variationen besser verstehen und die Normalgrösse von den relativ häufigen Zwerg- und Riesenexemplaren unterscheiden.

Aus Brasilien hat WIEDEMANN zahlreiche Arten von Sarcophaga beschrieben, von denen welche sogar aus SÃO PAULO stammten, während bei den meisten anderen die genauere Herkunft unsicher ist. MACQUART hat noch einige Arten hinzugefügt, die aber nicht alle neu waren. Endlich hat auch SCHINER aus dem Materiale der Novarareise einige Arten veröffentlicht, zu denen meines Wissens seither keine hinzugekommen sind. Es gibt deren aber sicher noch mehrere, wie ich aus meiner eigenen Sammlung ersehen kann. Eine Beschreibung solcher scheint mir aber erst am Platze, wenn man sich über die früher beschriebenen einigermassen klar geworden ist.

Ueber die Verbreitung der einzelnen Arten, die bei der Bestimmung von grosser Wichtigkeit wäre, ist noch sehr wenig bekannt. Wahrscheinlich gibt es neben Arten von weitem Verbreitungsgebiete, wie *S. chrysostoma* und *georgina* andere mit mehr beschränkten Fundorten. Eine Verschleppung einzelner Arten dürfte bei ihrer Le-

no seu modo de viver, porque se observam ás vezes larvas maduras, saindo de insetos mortos e não se póde acreditar, com SCHINER, que estas foram sempre depozitadas depois da morte do inseto.

Depois de revista a minha coleção creio ter reconhecido com bastante certeza as especies seguintes de WIEDEMANN: *S. georgina*, *dimidiata*, *comta*, *phoenicurus* (=*rufipalpis* MACQ.), *obsoleta*, *calida*, *lambens*, *terminalis* e *modesta*. A sua *tesselata* combina bem com uma especie bastante frequente entre nós, sendo, porém, as dimensões d'esta bastante maiores; outra especie indijena póde ser referida á *S. plinthopyga*, descrita de WIEDEMANN da ilha de S. Thomaz. Outras duas correspondem ás *S. qudrivittata* MACQ. e *xanthophora* SCHINER. Além destas, tenho muitas sarcofagas pertencentes a, pelo menos, quatro especies aparentemente novas. Convem tambem notar que a coloração vermelha citada por WIEDEMANN como carateristica da *S. comta* só se encontra excecionalmente nos exemplares apanhados entre nós.

bensweise und raschen Entwicklung nicht auf allzugrosse Schwierigkeiten stossen. Einige Arten scheinen sich in ihrer Lebensweise den Tachinen zu nähern, indem man die Larven gelegentlich aus toten Insekten hervorkommen sieht, worauf sie sich sofort verpuppen; dabei ist kaum anzunehmen, dass sie, wie SCHINER will, in allen Fällen erst auf die toten Tiere abgelegt wurden.

Nach einer wiederholten Revisiom meiner Sammlung glaube ich folgende WIEDEMANN'sche Arten mit vollständiger Sicherheit erkannt zu haben:

S. chysostoma, *georgina*, *dimidiata*, *comta*, *S. phoenicurus* (=*rufipalpis* MAC.) *absoleta*, *calida*, *lambens*, *terminalis*, und *modesta*. *S. tesselata* WIED. stimmt mit einer hier häufigen, jedoch bedeutend grösseren Art; eine andere lässt sich auf *plinthopyga* WIED. (von der Insel ST. THOMAZ beschrieben) beziehen. Ferner scheinen je eine Art der *S. quadrivittata* MACQ. und eine andere der *S. xanthophora* SCHINER zu entsprechen. Ausserdem liegen noch eine Anzahl Stücke vor, welche wenigsten 3 Arten entsprechen und wahrscheinlich als neu angesehen werden müssen. Zu bemerken wäre noch, dass bei *S. comta* WIED die rote Färbung des Abdomens hierzulande als Ausnahme und nicht als Regel erscheint.

Estudos sobre flajelados

PELO

Prof. Dr. Max Hartmann

(Membro do Instituto de Molestias infetuozas em Berlin.)

E

Dr. Carlos Chagas

(Assistente)

(Estampas 4 a 9 e figuras no texto.)

Flagellaten-Studien

VON

Prof. Dr. Max Hartmann

UND

Dr. Carlos Chagas,

(Assistenten.)

(Hierzu Tafel 4 - 9 und Textfiguren.)

SUMARIO.

Introdução.

Material e metodos de pesquiza.

Parte Especial.

I. Protomonadina :
1. *Cercomonas parva* n. sp.
2. *Spongomonas uvella* (Stein) e *Sp. splendida* (Stein).
3. *Cyathomonas truncata*. (Fres.)

II. Binucleata :
Prowazekia cruzi n. g., n. sp.

III. Chromomonadina :
Chilomonas paramaecium (Ehrbg.).

IV. Euglenoidea :
Peranema trichophorum (Ehrbg.).

Parte Geral.

I. Nucleo e aparelho flajelar dos flajelados.
1. Centriolo.
2. Estrutura do nucleo e mitoze.
3. Aparelho flajelar.
4. Duplicidade nuclear.

II. Sistema dos flajelados.

Bibliografia.

Explicação das estampas.

INHALTSÜBERSICHT.

Einleitung.

Material und Untersuchungsmethoden.

Spezieller Teil.

I. Protomonadina :
1. *Cercomonas parva* n. sp.
2. *Spongomonas uvella* (Stein) und *Sp. splendida* (Stein).
3. *Cyathomonas truncata* (Fres).

II. Binucleata :
Prowazekia cruzi n. g., n. sp.

III. Chromomonadina :
Chilomonas paramaecium (Ehrbg.).

IV. Euglenoidea :
Peranema trichophorum (Ehrbg.).

Allgemeiner Teil.

I. Der Kern- und Geisselapparat der Flagellaten.
1. Centriol.
2. Kernbau und Mitose.
3. Geisselapparat.
4. Doppelkernigkeit.

II. Das System der Flagellaten.

Literaturverzeichnis.

Tafelerklärung.

INTRODUÇÃO.

Em alguns frascos de agua doce, provenientes de dois pantanos de Manguinhos, apareceram, em grande quantidade, algumas especies de flajelados. Como são muito lacunozos, especialmente nos flajelados de agua doce, os conhecimentos da estrutura do nucleo e do aparelho flajelar, assim como a divizão nuclear, rezolvemos estudar algumas fórmas delles, atentando nos pontos obscuros. Ao passo que das fórmas parazitarias, não só dos tripanozômos, como de seus afins, mas, tambem dos flajelados intestinais poliflajelados (*Trichomastix*, *Trichomonas*, *Hexamitus*, *Lamblia*, etc.) já existem alguns estudos citolojicos muito completos de v. Prowazek (1902), Wenyon (1907), Dobell, (1908), Bensen (1909), quanto ás fórmas de agua doce, especialmente das Protomonadinas, só existe o primeiro trabalho sobre flajelados, de v. Prowazek (1902), no qual, pela primeira vez, tambem, este autor mostrou a grande significação que tem a estrutura fina do nucleo e do aparelho flajelar para a classificação dos flajelados, estabelecendo ainda alguns tipos principais desses flajelados para servir de padrões á futura classificação natural. Dest'arte, um dos intuitos deste trabalho foi acumular maior material para assim poder estabelecer, em definitiva, sobre tais bazes, a classificação. Os novos estudos sobre a estrutura do nucleo dos protozoarios e da relação que existe entre elle e o aparelho flajelar levaram Hartmann e v. Prowazek (1907), em sequencia á concepção de Schaudinn, a estabelecer a homolojia do cariozoma e do blefaroplasto e centrozomio, assim como a aceitar a hipoteze da duplicidade nuclear das celulas dos protozoarios. O exame da veracidade desta hipoteze e a possibilidade de trazer para ella maior material elucidativo constitue o outro intuito de nossas pesquizas. Estas não formam tampouco a monografia completa dos referidos flajelados, tendo sido principalmente realizados nossos estudos com os dois objetivos acima referidos. As questões relativas á organização e biolojia

EINLEITUNG.

In einigen Gläsern mit Süsswasser, das aus zwei Tümpeln von Manguinhos stammte, traten in grosser Zahl einige Flagellatenarten auf. Da die Kenntnisse der Struktur des Kern- und Geisselapparates, sowie der Kernteilung gerade bei den primitiven Süsswasserflagellaten noch sehr lückenhaft sind, beschlossen wir einige dieser Formen nach dieser Richtung hin zu untersuchen. Während von parasitischen Formen, und zwar nicht nur den Trypanosomen und Verwandten, sondern auch den vielgeisseligen Darmflagellaten (*Trichomatix*, *Trichomonas*, *Hexamitus*, *Lamblia* etc.) durch die Arbeiten von v. Prowazek (1902), Wenyon (1907), Dobell (1908), Bensen (1909), genauere cytologische Befunde vorliegen, existiert über die Süsswasserformen, speciell die Protomonadina, nur die erste Flagellaten-Arbeit von v. Prowazek (1902), in der dieser Autor auch zum ersten Male die grosse Bedeutung der feineren Struktur von Kern- und Geisselapparat für die Systematik der Flagellaten betont und einzelne Haupttypen derselben als Grundlage eines künftigen natürlichen Systems aufgestellt hat. In dieser Richtung weiteres Material beizubringen und so eventuell ein System auf dieser Grundlage endgültig durchführen zu können, war das eine Ziel unserer Untersuchung.

Die neueren Studien über den Aufbau der Protozoenkerne und ihr Verhältnis zur Geisselbildung haben Hartmann und v. Prowazek (1907) in Weiterführung Schaudinn'scher Anschauungen zu einer Homologie von Caryosom, Blepharoplast und Centrosom, sowie der Annahme einer Doppelkernigkeit der Protozoen-Zelle geführt. Die Richtigkeit dieser Hypothese zu prüfen und eventuell weiteres Beweis-Material für sie beizubringen, war der zweite Gesichtspunkt unserer Untersuchungen. Dieselben bezwecken also nicht ein vollständiges monographisches Studium der betreffenden Flagellaten, sondern waren in erster Linie auf diese beiden Fragen gerichtet. Ueber andere Verhältnisse in der

dos citados flajelados serão apenas mencionadas acidentalmente, quando oportuno, sem que tenham constituido objeto especial de nossas investigações.

MATERIAL E METODOS DE PESQUIZA.

Como já foi dito, provinha o material de dois charcos de agua doce nos quais, ao lado de amebas, arcelas, etc. apareciam, em grande cópia, principalmente algumas especies de flajelados. Apoz algum tempo a maioria das formas dezaparecia de nossos depozitos de laboratorio, mas, com facilidade, outra colheita nos pontos de orijem fornecia-nos, novamente, material de estudo. Encontravam-se, sobretudo, as seguintes especies: *Cyathomonas truncata* Fres., *Spongomonas uvella*, *Rhipidodendron splendidum*, *Peranema trichophorum* e *Chilomonas paramaecium*. Variava muito com o tempo a relação numerica das especies entre si: ás vezes só se encontrava *Cyathomonas*, outras preponderava o *Spongomonas*; o *Chilomonas* era o mais abundante e o que mais tempo rezistia. O *Peranema* raramente aparecia em grande abundancia. Além desses, eram reprezentadas uma especie pequena de *Monas*, uma *Oicomonas* e uma *Dimastigamoeba*.

Dois outros flajelados apareceram em culturas de agar que o Dr. Gomes de Faria tinha feito, de fezes humanas, culturas essas que, amavelmente, nos cedeu. Seja-lhe aqui consignado o penhor de nossos agradecimentos. Na placa de cultura orijinal existia proliferação abundantissima de uma só fórma de flajelado que se aproxima do *Bodo* pela dispozição do flajelo, mas, que delle se afasta, claramente, pelo seu modo de inserção e pelo aspeto do nucleo. Parece-nos ser identica a uma especie de *Bodo* figurada por v. Prowazek (1902) e para ella criamos novo genero e especie *Prowazekia cruzi*. Facilmente foram obtidas transplantes dessa cultura, mas, algumas semanas apoz, foram ellas impurificadas por segundo flajelado, uma especie de *Cercomonas*, para a qual criámos nova especie. A confecção dos preparados era muito simples. Para as fórmas de agua doce, colocaOrganisation und Biologie der betreffenden Flagellaten werden wir mithin nur soweit berichten, als sie nebenbei ohne besondere Untersuchungen erhoben werden konnten.

MATERIAL UND UNTERSUCHUNGS-METHODEN.

Wie erwähnt stammte das Material aus Wasser zweier Süsswassertümpel, in denen neben Amoeben, Arcellen etc. besonders einige Flagellatenarten in grosser Anzahl auftraten. Nach einiger Zeit verschwanden zwar die meisten Formen in unseren Glasgefässen, doch konnten wir sie durch frische Füllung wieder erhalten. Es handelt sich hauptsächlich um folgende Arten: *Cyathomonas truncata* Fres., *Spongomonas uvella*, *Rhipidodendron splendidum*, *Peranema trichophorum* und *Chilomonas paramaecium*. Das Mengeverhältnis der einzelnen Arten war zeitlich ausserordentlich verschieden; manchmal fand sich fast nur *Cyathomonas*, ein andermal überwog *Spongomonas*, am häufigsten war meist *Chilomonas*, die auch stets am längsten ausdauerte, *Peranema* trat am seltensten in grösserer Anzahl auf. Ferner war öfters eine kleine *Monasart*, eine *Oicomonas* und eine *Dimastigamoeba* reichlich vertreten.

Zwei weitere Flagellaten traten in Agarkulturen auf, die Herr Dr. Gomes de Faria aus menschlichen Fäces angelegt hatte, und die uns derselbe freundlich überliess. Auch an dieser Stelle sei ihm dafür unser Dank ausgesprochen. Zunächst fand sich auf der Originalplatte nur eine ausserordentlich reiche Kultur einer Form, die ihren Geisselverhältnissen nach zu *Bodo* gehört, sich nach Geisselinsertion und Kern aber von ihr wesentlich unterschied. Sie scheint uns mit der von v. Prowazek (1902) abgebildeten *Bodo spec.* identisch zu sein und wir haben für sie eine neue Gattung u. Species: *Prowazekia cruzi* errichtet. Es gelang leicht diese Kulturen weiter zu führen, doch trat nach einigen Wochen wohl durch Verunreinigung ein zweites Flagellat auf, eine *Cercomonas*-Art, für die wir eine neue Species errichtet haben.

vamos laminulas sobre a superficie da agua e as deixavamos por algum tempo, geralmente de uma a muitas horas, muitas vezes durante uma noite inteira. A' face inferior das mesmas colava-se, nesse tempo, grande numero dos protozoarios existentes na agua, podendo-se, então, levantar cuidadozamente a laminula e fixal-a a humido, a modo de um esfregaço (*frottis*) sem perda sensivel de material.

Como fixadores utilizavamos o sublimado-alcool de SCHAUDINN ou o liquido de HERMANN; as colorações se faziam com a hematoxilina férrea, segundo HEIDENHAIN ou ROSENBUSCH. São estes metodos de preparação perfeitamente utilizaveis para os protozoarios d'agua doce, obtendo-se com elles, em curto prazo, excelentes preparados. Além disso, tais preparados, como tivemos ocazião de verificar, por comparação, têm sobre os processos dos córtes, grande vantajem, porque permitem ver em conjunto todo o animal cuja organização póde ser, então, facilmente compreendida, sem que as figuras na interpretação e analize sejam inferiores á dos córtes.

PARTE ESPECIAL.

I. PROTOMONADINA:

1. Cercomonas parva n. sp.

O organismo que vamos aqui descrever apareceu, como dissemos, na cultura da *Prowazekia*. Trata-se, evidentemente, de nóva especie que denominamos *parva* e que se enquadra no genero *Cercomonas* de DUJARDIN, no sentido que a elle damos (v. mais adiante).

ASPETO. — O flajelado tem fórma de pera ou antes de fuzo e, apezar de sua forte variabilidade ameboide, é claramente monaxonico. A extremidade anterior é reconhecivel pela prezença de grande e longo flajelo e a porção posterior pelo denominado prolongamento caudal.

O flajelado livre, nadando, tem, junto á extremidade anterior, a porção mais larga, na qual se depara o nucleo (Est. 4, Fig. 1 e 4). Seu comprimento, incluido o

Die Herstellung der Präparate war sehr einfach. Bei den Süsswasserformen legten wir Deckgläser auf die Wasseroberfläche und liessen sie darauf eine zeitlang liegen, meist eine bis mehrere Stunden, vielfach auch über Nacht. An der Unterseite derselben heften sich während dieser Zeit die im Wasser lebenden Protisten meist in grosser Anzahl fest und man kann dieselben dann vorsichtig abheben und wie Deckglasaustriche feucht fixieren, wobei kaum Material verloren geht. Zum Fixieren benutzten wir SCHAUDINN'schen Sublimatalkohol und HERMANN'sche Flüssigkeit; gefärbt wurde vorwiegend mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN oder ROSENBUSCH. Wir können diese Präparationsmethode für Süsswasserprotozoen ausserordentlich empfehlen, da man damit in kürzester Zeit vorzügliche Präparate erhält. Dieselben haben zudem, wie wir uns durch Vergleiche überzeugen konnten, vor Schnittpräparaten noch den grossen Vorteil, dass man stets das ganze Tier vor sich hat und so die Organisation leichter verstehen kann, ohne dass die Bilder an Deutlichkeit und Auflösung den Schnitten nachstehen.

SPEZIELLER TEIL.

I. PROTOMONADINA:

1. Cercomonas parva n. sp.

Der hier zu beschreibene Organismus trat wie erwähnt nach einiger Zeit in der Kultur von *Prowazekia* auf. Es handelt sich offenbar um eine neue Art, die wir *parva* nennen und in die DUJARDIN'sche Gattung *Cercomonas*, jedoch in den von uns gefassten Sinne (siehe später), einreihen.

GESTALT.—Das Flagellat besitzt eine birnförmige resp. mehr spindelförmige Gestalt und ist trotz seiner starken amoeboiden Veränderlichkeit ausgesprochen monaxon; das Vorderende ist durch die beträchtlich lange Geissel, das hintere durch den sog. Schwanzfortsatz gekennzeichnet. In der Nähe des Vorderendes ist das Flagellat im ungestörten, schwimmenden Zustande am breitesten und hier liegt der Kern (Taf 4, Fig. 1 und 4). Seine Länge beträgt

prolongamento caudal, excluindo-se, porem, o flajelo, é de 6,5—20 μ, dos quais, nas fórmas grandes, cerca de 5 μ pertencem ao prolongamento caudal. A largura é de 3 a 5 μ. Ambos os pólos são afilados e são reconheciveis, mesmo durante os movimentos ameboides. Assim se distingue o genero, dum lado da mastigameba poliaxonica e doutro lado do genero *Oicomonas*, de fórma mais ovalar e não terminado em apendice caudal afilado, ponto este, de que voltaremos a tratar mais tarde.

Filamento axial. — A fórma caracteristica da celula, que é inteiramente ameboide, e, portanto, em estado liquido, depende de esqueleto, constituido por uma fibrila axial que teve orijem no nucleo, situado na extremidade anterior, e se estende até a extremidade do prolongamento caudal. Este filamento axial é relativamente mais vizivel no estado vivo; e nesse exame tem-se a impressão de que elle vem diretamente do flajelo (Est. 4, Fig 2). Isto provem de que, durante a vida, em regra, o nucleo não é vizivel e que do respetivo cariozoma parte, dum dos lados (do de traz), o filamento axial, e do outro (do da frente) o flajelo ou seu rizoplasto (Est. 4, Fig. 1 e 4). Mas, quando é possivel, o que raro acontece, observar-se o nucleo durante o estado vivo (Est. 4, Fig. 1), vê-se, então, que elle se acha encaixado na continuidade das fibrilas (filamento axial e flajelo) aparentemente unicas. O filamento axial é dificilmente vizivel nos preparados córados; os melhores são obtidos com a hematoxilina férrea de Rosenbusch. Tais preparados trouxeram a convicção de que elle se orijina do cariozoma do nucleo. Como já foi dito, o filamento axial é um elemento morfojenico no sentido de Koltzoff (1906), Hartmann e v. Prowazek (1907). A elasticidade dessa fibrila, presuposta por tal concepção, é, em nosso cazo, patente por ocazião dos movimentos ameboides da celula. O movimento ameboide não é completo, só póde ter a extensão que lhe permite o filamento axial, elastico e rijo, implantado no meio do protoplasma liquido, e que pelo movimento se

inklusive Schwanzfortsatz, aber ohne Geissel 6,5—20 μ, wobei bei den grösseren Formen etwa 5 μ dem Schwanzfortsatz zufallen. Die Breite ist c. 3—5 μ. Beide Pole sind zugespitzt und bleiben auch bei der amoeboiden Bewegung erkenntlich. Dadurch unterscheidet sich die Gattung einerseits von der polyaxonen Gattung *Mastigamoeba*, andererseits von der stets mehr ovalen, nicht in einem Schwanzfortsatz ausgezogene Gattung *Oicomonas*, worauf wir zum Schlusse noch zurückkommen.

Axenstab. — Die charakteristische Gestalt der sonst volkommen amoeboiden, also in flüssigem Zustand befindlichen Zelle wird durch ein eigenes Skelett-Element bedingt, nämlich eine feine axiale Fibrille, die von dem im Vorderende gelegenen Kern ausgeht und sich bis in die Spitze des Schwanzfortsatzes erstreckt. Im Leben ist dieser Axenstab verhältnismässig am leichtesten zu beobachten; hierbei gewinnt man den Eindruck, als ob er sich direkt in die Geissel fortsetzte (Taf. 4, Fig. 2). Das kommt daher, dass im Leben der Kern in der Regel nicht wahrzunehmen ist, von dessen Caryosom einerseits (nach hinten) der Axenstab, andererseits (nach vorn) die Geissel resp. deren Rhizoplast ausgeht (Taf. 4, Fig. 1 und 4). Wenn aber einmal, was äusserst selten, auch im Leben der Kern zu beobachten ist (Taf. 4, Fig. 1); dann sieht man, dass er in den Verlauf der scheinbar einheitlichen Fibrille (Axenstab und Geissel) eingeschaltet ist. Im gefärbten Präparat ist der Axenstab schwer nachzuweisen, am ersten gelingt es mit Eisenhämatoxylin in der Modifikation von Rosenbusch. An solchen Präparaten konnte man sich deutlich überzeugen, dass er vom Caryosom des Kernes ausgeht.

Wie schon erwähnt, ist der Axenstab ein formgebendes Element in dem Sinne von Koltzoff (1906), Hartmann u. v. Prowazek (1907). Die bei dieser Auffassung vorausgesetzte Elastizität der Fibrille tritt in unserem Falle deutlich bei der amoeboiden Veränderung der Zelle zu Tage. Die amoeboide Beweglichkeit ist nämlich keine vollkom-

recurva perdendo a pozição retilinea (Est. 4, Fig. 2). As mensurações feitas em varios dezenhos exatos de diversos aspetos morfolojicos da mesma celula, mostram que o filamento axial recurvado durante os movimentos ameboides (Est. 4, Fig. 2), tem sempre o mesmo comprimento que quando não encurvado i. é, elle reprezenta um todo rijo e elastico que se curva em virtude das modificações ativas do plasma (consecutivas ás variações de tensão superficial) e não uma estrutura contratil, como até a pouco tempo era e, em parte ainda é (Ballowitz), a idéa dominante sobre todas as estruturas fibrilares analogas. Esta observação demonstra, com a mesma exatidão que as verificações experimentais de v. Prowazek (1908), nas celulas-tripanozômos e de Koltzoff, nas espermias a natureza elastica desse elemento fibrilar. No ponto de vista genezico o filamento axial é a centrodesmoze (fuzo central conservado) proveniente da ultima divizão nuclear, como é bem o cazo, segundo v. Prowazek (1904) na *Trichomastix lacertae*. Sobre tal assunto ainda voltaremos.

Flajelo. — O flajelo tem o comprimento do corpo, cerca de 15 μ e, nas mais das vezes, alonga-se em linha reta para frente. Sae da parte anterior do corpo, de corpusculo bazal simples, que, por sua vez se acha ligado ao cariozoma do nucleo por intermedio duma fibrila — o rizoplasto (Est. 4, Fig. 1, 3 e 4). E' este um modo de inserção nuclear que já se póde considerar tipico para parte das protomonadinas, apoz os estudos de v. Prowazek (1902). Genezicamente tal estrutura é explicavel, compreendendo-se o corpusculo bazal e o rizoplasto como centriolo e centrodesmoze da primeira divizão heteropolar do cariozoma ; o flajelo propriamente dito seria centrodesmoze da divizão do corpusculo bazal (2.ª divizão heteropolar), como pela primeira vez indicou Schaudinn (1904) nos tripanozômos, no que foi mais tarde secundado por v. Prowazek (1905), Hartmann (1907), Rosenbusch (1908) e Chagas (1909). Em nosso cazo, não pudemos demonstrar o fato genezicamente para

mene, sondern kann sich nur soweit äussern, als es der in das flüssige Protoplasma eingefügte feste, elastische Axenstab zulässt, der dabei aus seiner gestreckter Lage verbogen wird (Taf. 4, Fig. 2). Messungen, die nach genauen Zeichnungen von verschiedenen Formzuständen derselben Zelle gemacht wurden, zeigen nun, dass der Axenstab im verbogenen Zustande, also bei der amoeboiden Bewegung (Taf. 4, Fig. 2), dieselbe Länge aufweist, wie im gestreckten, d. h. er ist ein starres, elastisches Gebilde, das durch die aktive Veränderung des Plasmas (durch Aenderung der Oberflächespannung) verbogen wird, nicht ein kontraktiles Gebilde, wie bis vor kurzem für derartige fibrilläre Strukturen die allgemein herrschende Ansicht war und zum Teil noch ist. (Ballowitz). Diese Beobachtung beweist jedoch mit derselben Sicherheit, wie die experimentellen Befunde von Prowazek (1908) an der Trypanosomenzelle und die von Kaltzoff an Spermien, die elastische Natur dieser fibrillären Elemente.

Genetisch ist der Axenstab die von der vorausgegangenen Kernteilung erhalten gebliebene Centrodesmose (Centralspindel), wie dies nach v. Prowazek (1904) auch bei *Trichomastix lacertae* der Fall ist. Wir werden hierauf noch zurückkommen.

Geissel. — Die Geissel ist etwa körperlang (c. 15 μ) und meist gerade nach vorn gestreckt. Im Vorderende des Zellleibes entspringt sie von einem einfachen Basalkorn, das seinerseits wieder durch eine Fibrille, den Rhizoplasten, mit dem Caryosom des Kernes verbunden ist (Taf. 4, Fig. 1, 3, 4). Es ist das ein Verhalten der Geisselinsertion, wie es schon nach den Untersuchungen von v. Prowazek (1902) für einen Teil der Protomonadinen als typisch gelten konnte. Diese Struktur erklärt sich genetisch in der Weise, dass das Basalkorn und der Rhizoplast als Centriol und Centrodesmose einer ersten heteropolen Teilung des Caryosoms aufzufassen sind, die eigentliche Geissel aber als die Centrodesmose einer Teilung des Basalkornes (zweite heteropole Teilung), wie das in ähnlicher

o flajelo, mas a fig. 13 da Est. 4 mostra a justeza dessa interpretação na formação do rizoplasto e do corpusculo bazal. No que respeita á estrutura fina do flajelo não foram feitas pesquizas especiais, mas, a maneira ulterior de se comportar na divizão celular mostra ser elle constituido de mais de uma fibrila (duas).

Movimento. — Já falámos acima do movimento ameboide e de sua dependencia do filamento axial.

Tambem a especie de movimento natatorio deve estar relacionada com os elementos morfojenicos. Neste movimento o corpo conserva seu aspeto piriforme e, contrariamente ao que se dá na *Prowazekia*, com elle concomitante, aprezenta movimento, sem grandes convulsões, pendulando levemente para frente, sendo o flajelo dirijido para diante em linha quazi réta, mostrando geralmente na extremidade um movimento em sacarolhas.

Esta maneira de ser leva a concluir pela relativa solidez do esqueleto flajelar. A mudança de direção faz-se da maneira seguinte: na rejião em que se insere o flajelo, nota-se um brusco encurvamento ou movimento convulsivo limitado ao flajelo, ou a este e mais ao segmento anterior da celula, de modo que as fibrilas morfojenicas ficam encurvadas por um pequeno espaço de tempo e tomam outra direção depois de voltar á fórma reta primitiva.

Plasma. — Pouco ha que dizer sobre o plasma regularmente alveolado e desprovido de periplasto. E' tambem nú, o que explica a grande variabilidade ameboide da celula. Não existe abertura bucal, a absorção dos alimentos se dá á maneira das amebas, por todos os pontos da superficie celular. Não foi observado vacuolo contratil.

Nucleo. — Só raramente o nucleo é vizivel no estado vivo, em que se aprezenta como vezicula esferica, na qual se diviza grande cariozoma. Tal aspeto concorda com o que se vê nos preparados córados; é um nucleo cariozomico simples em cujo cario-

Weise zuerst Schaudinn (1904) bei Trypanosomen angegeben hat, wo es später von v. Prowazek (1905), Hartmann (1907), Rosenbusch (1908) und Chagas (1909) bestätigt wurde. In unserem Falle können wir zwar für die eigentliche Geissel nicht den genetischen Beweis erbringen, dagegen zeigt Fig. 13, Taf. 4 die Berechtigung dieser Auffassung für die Entstehung von Rhizoplast u. Basalkörper. Ueber den feineren Bau der Geissel wurden keine besondere Untersuchungen angestellt, doch beweist sein späteres Verhalten bei der Zellteilung, dass sie aus mehreren (2) Fibrillen zusammen gezetzt ist.

Bewegung. — Wir sprachen oben schon von der amoeboiden Beweglichkeit und ihrer Abhängigkeit von dem Axenstab. Auch die Art der Schwimmbewegung dürfte durch die formgebenden Elemente wesentlich bestimmt sein; hierbei behält der Körper seine birnförmige Gestalt und bewegt sich im Gegensatz zu der mit ihr vorkommenden *Prowazekia* ohne heftige Zuckungen, nur leicht pendelnd nach vorwärts, wobei die Geissel ziemlich gestreckt nach vorn gerichtet ist und meist an der Spitze schraubenförmige Bewegung zeigt. Dies Verhalten lässt auf eine ziemliche Festigkeit des Geisselskelettes schliessen. Richtungsänderungen treten in der Weise ein, dass plötzlich in der Gegend der Geisselinsertion entweder nur die Geissel oder mit ihr das Vorderende der Zelle eine Biegung oder Knickung erfährt, wodurch die formgebenden Fibrillen für kurze Zeit verbogen werden und nach Herstellung der Streckung eine andere Richtung einnehmen.

Plasma. — Ueber das Plasma ist wenig zu sagen, es ist gleichmässig wabig gebaut und weist keinen Periplasten auf. Es ist also nackt, was die grosse amoeboide Veränderlichkeit der Zelle erklärt. Eine besondere Mundstelle ist nicht vorhanden; die Nahrungsaufnahme geschieht offenbar nach Art der Amoeben an jeder Stelle der Zelloberfläche. Eine kontraktile Vakuole wurde nicht beobachtet.

Kern. — Der Kern ist im Leben nur äusserst selten zu sehen und erweist sich

zoma se acha contida toda substancia cromatica (cromatina e plastina). A zona de suco nuclear, que cerca o cariozoma, é separada do plasma por delgada membrana, e, nas mais das vezes não aprezenta estrutura; apenas, eventualmente, póde-se ver nelle septos de linina com alguns granulos de cromatina. (Est. 4, Fig. 5 e 12). Isto mostra que o cariozoma é séde de trócas nutritivas ciclicas, como se verifica facil e claramente em outras fórmas. Nos nucleos em repouzo, consequentemente á estrutura compacta do cariozoma, não se póde ver o centriolo, se bem que seja indubitavel a existencia delle, como se verifica na divizão nuclear.

Multiplicação. — A multiplicação se dá por divizão binaria simples; os carateristicos de divizão lonjitudinal não se patenteam claramente, por isso que, mercê da fuzão do filamento axial que precede a divizão do flajelado, dezaparece por completo seu carater monoaxonico (Est. 4, Fig. 5 a 11), tornando-se a fórma ovalar (Est. 4, Fig. 6, 8 e 9) ou completamente esferica (Est. 4, Fig. 7 e 10). Seja acentuado que o eixo da divizão nuclear está na maioria das vezes no eixo lonjitudinal do flajelado, emquanto esse é reconhecivel. Ulteriormente, parece sofrer uma torção de 90° de maneira que, como acontece nos flajelados, o plano de divizão coincide com o eixo lonjitudinal do animal (divizão lonjitudinal). A's vezes, a figura da divizão nuclear desde o começo se acha colocada transversalmente sobre o eixo lonjitudinal (Est. 4, Fig. 5 e 7). A divizão nuclear se processa só no cariozoma como era de esperar, tratando-se d'um simples nucleo cariozomico. Infelizmente, no que respeita á estrutura fina nossa fórma é desfavoravel objeto de estudo, em consequencia da natureza compacta do cariozoma e da rapidez com que se processa a divizão. Aparentemente, manifesta-se como simples estrangulamento do cariozoma (a chamada *amitoze*). Não obstante, se póde verificar que, logo no inicio se dá a divizão do centriolo, até então invizivel; em consequencia disso aparecem os 2 centriolos filhos unidos pela centrodesmose.

als ein kugeliges Bläschen, in dem man nur ein grosses Caryosom wahrnimmt. Damit stimmt seine Struktur in gefärbten Präparaten; er ist ein einfacher Caryosomkern, in dessen Caryosom alle färbbare Substanz enthalten ist (Chromatin und Plastin). Die das Caryosom umgebende Kernsaftzone ist gegen das Plasma durch eine feine Membran abgegrenzt, und meist völlig strukturlos; nur gelegentlich kann man darin Lininwände und einzelne Chromatinkörnchen beobachten (Taf. 4, Fig. 5 und 12). Es deutet das auf zyklische Umsätze am Caryosom hin, wie sie bei anderen Formen deutlich zu beobachten sind. Am ruhenden Kerne konnte wegen der Kompaktheit des Caryosoms kein Centriol nachgewiesen werden; doch ist dessen Vorhandensein, wie die Kernteilung zeigt, wohl ausser Zweifel.

Fortpflanzung. — Die Vermehrung geschieht durch einfache Zweiteilung; ihr Charakter als Längsteilung tritt hierbei nicht deutlich zu Tage, da durch Einschmelzung des Axenstabes vor der Teilung das Flagellat seine monaxone Gestalt völlig einbüsst (Taf. 4, Fig. 5 bis 11) und oval (Fig. 6, 8, 9) oder ganz kugelig wird (Taf. 4, Fig. 7 u. 10). Hervorzuheben ist, dass die Kernteilungsaxe meist in der Längsaxe des Flagellaten liegt, soweit letztere noch erkannt werden kann. Doch scheint es nachträglich noch zu einer Drehung um 90° zu kommen, so dass, wie sonst bei Flagellaten, die Teilungsebene mit der Längsaxe des Tieres zusammen fällt (Längsteilung). Manchmal wird auch die Kernteilungsfigur von Anfang an quer zur Längsaxe angelegt (Taf. 4, Fig. 5 und 7).

Die Kernteilung spielt sich, wie bei einem einfachen Caryosomkern nicht anders zu erwarten, ganz am Caryosom ab. Leider ist für das feinere Studium derselben unsere Form in Folge der Kompaktheit des Caryosoms und des raschen Verlaufes der Teilung ein sehr ungünstiges Objekt. Sie erscheint scheinbar als eine einfache Durchschnürung des Caryosoms (sog. Amitose). Doch konnte beobachtet werden, dass zu Beginn erst das bisher nicht sichtbare

moze (*fuzo central*) de cada lado oposto do centrozomio, ainda esferico, podendo ser elles assim percebidos (Est. 4, Fig. 5). Por ocazião da divizão da totalidade do cariozoma tornam-se de novo inviziveis (Est. 4, Fig. 6 e 8) e nos ultimos estádios sómente a centrodesmoze (*Centralspindel*) é vizivel (Est 4, Fig. 10). A's vezes toda a divizão do cariozoma se dá completamente no interior da membrana nuclear (Est. 4, Fig. 9), se bem que seja isso raridade. Em regra, a totalidade do nucleo se alonga já, por ocazião do aparecimento da fórma em halteres do fuzo cariozomico (Est. 4, Fig. 7 e 8) e, assim, se dividem simultaneamente. Os dois nucleos filhos se acham ainda ligados por meio de centrodesmoze, que, porem, assim como o filamento axial é dificilmente caraterizavel pelas colorações (Est 4, Fig. 10). Póde-se, com certeza, aceitar a idéa da permanencia definitiva destes e que, por ocazião da separação por estrangulamento da celula, delle provenham os filamentos axiais das celulas filhas, pelo mesmo modo que foi verificado por v. Prowazek (1904) para o *Trichomastix lacertae*. Dallinger e Drysdale (1873) figuraram para a *Cercomonas typica* uma chamada divizão transversal que já mostrava alongamento em fórma de fino prolongamento caudal, não tendo elles podido, naturalmente, observar o filamento axial, com os recursos da tecnica de que outr'ora se dispunha.

A descrição de v. Prowazek foi ultimamente criticada por Dobell (1909) que interpretou os fatos diversamente, considerando, de acordo com suas observações sobre especies analogas, que o filamento axial deveria provir genezicamente das centrodesmozes pertencentes aos corpusculos bazais (blefaroplasto, segundo Dobbel). Como, em nosso cazo, dezaparecem cedo o flajelo e o corpusculo bazal do animal em divizão (Est. 4, Fig. 5, 10 e 11), fica completamente rejeitado o modo de ver de Dobell.

E' digno de nota, ainda, que, por duas vezes, ao lado do cariozoma em divizão

Centriol sich teilt; dabei treten die durch die Centrodesmose (Centralspindel) verbundenen Tochtercentriolen über das noch kugelige Caryosom an entgegengesetzten Seiten hervor, wodurch sie eben wahrgenommen werden können (Taf. 4, Fig. 5). Bei der Teilung des ganzen Caryosoms werden sie dann wieder unsichtbar (Taf. 4, Fig. 6, 8) und in den letzten Stadien tritt nur wieder die Centrodesmose (Centralspindel) zu Tage (Taf. 4, Fig. 10). Manchmal wird die ganze Caryosomteilung noch innerhalb der Kernmembran vollständig durchgeführt (Taf. 4, Fig. 9), doch ist es eine Seltenheit. In der Regel streckt sich der ganze Kern schon in dem Hantelstadium der Caryosomspindel (Taf 4, Fig. 7, 8) und teilt sich gleichzeitig mit durch. Die beiden Tochterkerne sind noch durch die Centrodesmose verbunden, die aber ebenso, wie der Axenstab, färberisch schwer darstellbar ist (Taf. 4, Fig. 10). Man kann wohl mit Sicherheit annehmen, dass sie dauernd erhalten bleibt und aus ihr bei der Durchtrennung der ganzen Zelle die Axenstäbe der Tochterzellen entstehen, in derselben Weise wie das v. Prowazek (1904) für *Trichomastix lacertae* angegeben hatte. Dallinger u. Drysdale (1873) haben von *Cercomonas typica* eine sog. Querteilung abgebildet, die das Ausziehen zu einem feinen Schwanzfortsatz schön illustriert, während sie den Axenstab natürlich mit den damaligen Hilfsmitteln nicht beobachten konnten. Die Darstellung von v. Prowazek wird zwar neuerdings von Dobell (1909) beanstandet und anders gedeutet, indem sich nach seinen Beobachtungen an ähnlichen Arten der Axenstab genetisch von der Centrodesmose der Basalkörper (Blepharoplast nach Dobell) herleiten soll. Da bei unserem Objekt die Geissel und der Basalkörper des Eltertiers bei der Teilung meist frühzeitig ganz verloren geht (Taf. 4, Fig. 5, 10, 11), so ist hierfür die Dobbel'sche Darstellung völlig ausgeschlossen.

Zu erwähnen wäre noch, dass zweimal neben dem sich teilenden (Taf. 4, Fig. 6) respektive geteilten (Taf. 4, Fig. 9) Caryosom, zwei stark gefärbte Körner in der

(Est. 4, Fig. 6) ou já dividido (Est. 4, Fig. 9) foram observadas no interior do nucleo duas granulações fortemente córadas, que parecem provenientes da divizão de um só granulo, anteriormente separado do cariozoma, o que era demonstrado pela pozição em que estavam. Do que aqui se tratava, não poude ser determinado.

O modo de se comportar do flajelo, tambem, não poude ser acompanhado em todas as fazes. Certo é que, na maioria das vezes, elle se perde muito cedo (Est. 4, Fig. 5) e que, em todo cazo, nos estádios mais serodios nunca se vê flajelo (Est. 4, Fig. 10 e 11). Assim, logo apoz cada divizão nuclear ou celular elle deve ser de novo formado pelo cariozoma, como, segundo nossas observações acontece tambem na maioria das vezes com as protomonadinas e rizomastijinas. A nova formação se processa pela mesma maneira que apoz a saída dos cistos. Formam-se aqui o corpusculo bazal e o rizoplasto, como mostra a Fig. 13 da Est. 4, por meio de mitoze heteropolar do cariozoma; a formação do flajelo propriamente dito assim, podia orijinar-se tambem de segundo fuzo heteropolar.

No estádio inicial da divizão, vêm-se bastas vezes duplo flajelo (Est. 4, Fig. 6 e 8) e um flajelo bifurcado na extremidade (Est. 4, Fig. 7). Como, seguramente, tal figura nada tem que ver com a neojeneze ou divizão do flajelo, acreditamos, que tem alguma relação com a dissolução do mesmo, mostrando ser constituido por multiplas fibrilas, o que já é conhecido nos flajelos dos flajelados, assim como nas fibrilas da cauda dos espermatozoides (Ballowitz).

Cistos. — Ao cabo de algum tempo o flajelado se encista nas placas de agar. O cisto é um simples cisto de rezistencia; fenomenos que fizessem supor a existencia de fecundação autogamica não foram observados. Elle é limitado por dupla membrana e, no plasma, vêm-se granulações que parecem constituidas de substancias de rezerva.

Kernhöhle beobachtet wurden, die durch Teilung eines einzigen wohl zuvor vom Caryosom abgetrennten Kornes entstanden zu sein scheinen, worauf ihre Lagerung hinweist. Um was es sich hier handelt, konnte nicht festgestellt werden.

Auch das Verhalten der Geissel konnte nicht in allen Teilen verfolgt werden. Sicher ist, dass sie meist sehr früh verloren geht (Taf. 4, Fig. 5) und dass jedenfalls in den späteren Stadien niemals eine Geissel zu sehen ist (Taf. 4, Fig. 10 u. 11). Sie muss daher offenbar nach der Kern- resp. Zellteilung jedesmal neu vom Caryosom ausgebildet werden, wie dies nach unseren Beobachtungen auch sonst bei Protomonadinen und Rhizomastiginen meist der Fall ist. Die Neubildung geschieht wohl in derselben Weise, wie nach der Excystierung. Hier entsteht, wie Fig. 13, Taf. 4, zeigt, durch heteropole Mitose des Cariosoms der Basalkörper und Rhizoplast; die Bildung der eigentlichen Geissel dürfte dann entsprechend durch eine zweite derartige heteropole Spindel entstehen.

In den Anfangsstadien der Teilung sieht man öfters eine doppelte Geissel (Taf. 4, Fig. 6, 8), resp. eine an der Spitze gegabelte Geissel. (Taf. 4, Fig. 7). Da diese Bilder sicherlich nicht mit der Neubildung oder Teilung der Geissel in Zusammenhang stehen, so glauben wir, dass sie mit der Auflösung derselben etwas zu tun haben, wobei eine Zusammensetzung aus mehreren Fibrillen zu Tage tritt, was ja sowohl von Flagellatengeisseln, wie von den Fibrillen im Schwanz der Spermien (Ballowitz) bekannt ist.

Cysten. — Nach einiger Zeit encystiert sich das Flagellat auf der Agarplatte. Die Cyste ist eine einfache Dauercyste; Vorgänge, die eventuell auf eine autogame Befruchtung hinwiesen, wurden nicht beobachtet. Sie ist von einer doppelten Membran umgeben und im Plasma finden sich Körner, die aus Reservestoff zu bestehen scheinen.

Systematische Stellung. — Wir rechnen das hier beschriebene Flagellat zur Gattung *Cercomonas* (Dujardin), die durch

Classificação. — Julgamos que o flajelado aqui descrito pertence ao genero *Cercomonas* Dujardin, caraterizado por unico flajelo longo, á extremidade anterior e por corpo celular dotado de movimento ameboide e com a extremidade posterior de prolongamento em fórma de cauda. Pelo fato, de que em muitos outros generos das rizomastijinas e protomonadinas se podem observar extremidades posteriores, em fórma de cauda, dotados de movimentos ameboides não póde tal elemento, como o assinalou Senn (1900) ser considerado como carateristico de genero e, por isso, Senn em seu trabalho sobre flajelados publicado no « *Natuer. Pflanzenfamilien* » de Engler e Prantl aboliu o genero *Cercomonas* e distribuiu todas as especies nelle existentes pelos generos *Mastigamoeba*, *Oicomonas* e *Cercobodo*. Já, anteriormente, Klebs considerára o *Cercomonas longicauda* Dujardin como *Cercobodo* (*Dimorpha*) *longicauda*, atendendo a que o segundo flajelo — o caudal — tinha escapado aos antigos observadores. Que é verdadeira a opinião de Klebs, já se depreende das figuras de Stein, publicadas em seu belo trabalho sobre flajelados, como *Cercomonas longicauda;* assim, o aspeto indubitavel de divizão lonjitudinal, que Stein mostra na fig. 6, da Est. I, parte V, só póde pertencer a um *Cercobodo* biflajelado. Ultimamente v. Prowazek descreveu tambem 2 flajelos para esta mesma fórma, estabelecendo tambem que saíam elles diretamente, sem rizoplasto, da membrana nuclear, como na *Mastigamoeba*. Na realidade, tal modo de inserção se dá em outras verdadeiras especies de *Cercobodo*, que mais minuciozamente estudámos e de que damos reprezentação na Fig. 14 da Est. 4. Na realidade, tal especie deve ser considerada como *Cercobodo*. Para algumas outras especies do antigo genero *Cercomonas*, que, porém, aprezentam um só flajelo, deve ser conservado o genero, em que peze á opinião contraria de Senn. Trata-se, principalmente, da especie aqui descrita e mais da *Cercomonas crassicauda* Dujardin, assim como da *Cercomonas longicauda*, que Moroff (1904) eine einzige lange Geissel am Vorderende und einen amoeboid veränderlichen Zellleib mit schwanzartigen Hinterende charakterisiert wurde. Da nun ein veränderliches, schwanzartiges Hinterende auch manchen anderen Gattungen der Rhizomastiginen und Protomonadinen zukommt, so kann dies wie Senn (1900) hervorgehoben hat, nicht als Gattungsmerkmal gelten und Senn hat daher in seiner Bearbeitung der Flagellaten in Engler und Prantl's Natürliche Pflanzenfamilien die Gattung *Cercomonas* gestrichen und ihre Arten auf die Gattungen *Mastigamoeba*, *Oicomonas* und *Cercobodo* verteilt. Früher schon hatte Klebs die *Cercomonas longicauda* Dujardin als *Cercobodo* (*Dimorpha*) *longicauda* betrachtet, indem er annahm, dass die zweite Schleppgeissel von den früheren Untersuchern übersehen worden war. Dass die Meinung von Klebs richtig ist, geht auch schon aus den Abbildungen von Stein hervor, die derselbe in seinem schönen Flagellatenwerke von der *Cercomonas longicauda* gegeben hat; denn der zweifellose Länsgsteilungszustand, den Stein in Fig. 6, Abt. V, Taf. I, abbildet, kann sich nur auf einen zweigeisselige *Cercobodo* beziehen. Neuerdings hat v. Prowazek für dieselbe Form ebenfalls zwei Geisseln beschrieben und zugleich angegeben, dass die beiden Geissel ohne Rhizoplast direkt von der Kernmembran entspringen, wie bei *Mastigamoeba*. Diese Geisselinsertion trifft in der Tat für andere echte *Cercobodo*-Arten zu, die wir näher untersucht haben und von der wir in Fig. 14, Taf. 4 eine Abbildung geben. Die Species muss daher tatsächlich zu *Cercobodo* gerechnet werden. Für einige andere Arten der alten Gattung *Cercomonas*, die aber nur eine einzige Geissel aufweisen, muss jedoch im Gegensatze zu Senn die Gattung beibehalten werden. Es handelt sich dabei hauptsächlich um die hier beschriebene Art und wohl auch um die *Cercomonas crassicauda* Duj., sowie die *Cercomonas longicauda*, die Moroff (1904) vorgelegen hat, und von der dieser Autor mit Bestimmtheit angibt, dass keine Schleppgeissel, sondern ein echter Schwanz-

observou e da qual este autor diz pozitivamente não aprezentar flajelo caudal, mas simples prolongamento caudal. Da especie de eixo variavel — *Mastigamoeba* — distingue-se o *Cercomonas* pela pronunciada monaxonia que, como vimos, depende do filamento axial e, alem disto, do modo de inserção do flajelo (corpusculo bazal com rizoplasto). Com o *Oicomonas* (Fig. 15, Est. 4) tem o *Cercomonas* de comum o numero de flajelos e o modo de inserção destes; distingue-se, porém, pelo prolongamento caudal permanente (filamento axial). Podem-se observar, tambem, nas especies de *Oicomonas* pseudopódios e mesmo prolongamento caudal, mas, este é sempre verdadeiro pseudopódio e não depende de elemento organico especial.

2. Spongomonas uvella Stein e Sp. (Rhipidodendron) splendida Stein.

Trataremos juntamente destas duas especies, porque as diferenças na organização dellas são tão pequenas que mui provavelmente se trata de especie unica. São flajelados dotados de dois flajelos de igual comprimento (*Amphimonadaceæ*) que são reunidos em colonias, por meio de envoltorio gelatinozo. Stein, bazeando-se na fórma das colonias ou, respetivamente, na de seus envoltorios gelatinozos estabeleceu trez generos diversos, e as especies que estudamos pertencem a dous desses generos, ao *Rhipidodendron* que é apenas reprezentado por uma especie *splendidum* e ao genero *Spongomonas*. O primeiro tem como caracteristica que as celulas vivem na extremidade de longos utriculos gelatinozos que correm quazi paralelamente em um só plano, um junto ao outro, formando assim colonias flabeliformes (Est. 5, Fig. 18). Contrariamente, no genero *Spongomonas* os envólucros gelatinozos nas colonias novas, são curtos, pediculados, ovais e mais tarde formam colonias arredondadas em fórma de saco ou chouriço (Est. 5, Fig. 19). De acordo com as nossas observações, os individuos celulares destes dous generos se correspondem perfeitamente, sendo, apenas, no *Rhipidodendron splendidum* de Stein um

fortsatz vorhanden sei. Von der wechselaxischen Gattung *Mastigamoeba* unterscheidet sich *Cercomonas* durch die ausgesprochene Monaxonie, die, wie vir gesehen haben, durch den Axenstab bedingt ist, ausserdem durch die Art der Geisselinsertion (Basalkorn mit Rhizoplast). Mit *Oicomonas* (Fig. 15, Taf. 4) hat *Cercomonas* zwar die Einzahl der Geissel und die Art der Geisselinsertion gemein, doch unterscheidet sie sich von ihr durch den dauernden Schwanzfortsatz (Axenstab). Wohl können auch bei *Oicomonas*-Arten Pseudopodien und dabei wohl auch ein schwanzartiges auftreten, dasselbe ist jedoch immer ein echtes Pseudopodium, nicht durch ein besonderes Organisationselement bedingt.

2. Spongomonas uvella Stein und Sp. (Rhipidodendron) splendida Stein.

Diese beiden Arten wollen wir zusammen abhandeln, weil die Unterschiede in ihrer Organisation so geringfügig sind, dass es sich sogar möglicherweise nur um eine einzige Species handelt. Es sind Flagellaten mit zwei gleichlangen Geisseln (*Amphimonadaceae*), die durch Gallerthüllen zu Kolonien vereinigt sind. Nach der Form der Kolonien resp. Gallerthüllen hat Stein drei verschiedene Gattungen aufgestellt, und die von uns untersuchten Arten gehören zweien von diesen Gattungen an, nämlich der Gattung *Rhipidodendron*, die nur durch die eine Species *splendidum* vertreten ist, und der Gattung *Spongomonas*. Die erstere wird dadurch charakterisiert, dass die Zellen in den Enden langer schlauchförmiger Gallertröhren leben, die in einer Ebene unter einander fast parallel verlaufen und somit flach fächerförmige Kolonien bilden (Taf. 5, Fig. 18). Bei der Gattung *Spongomonas* sind dagegen die Gallerthüllen bei jungen Kolonien kurz, gestielt, oval und bilden später mehr kugelige, sack- oder wurstförmige Kolonien (Taf. 5, Fig. 19).

Nach unseren Beobachtungen stimmen nun die Zellindividuen bei beiden Gattungen vollkommen überein, nur sind sie

pouco mais alongados, em consequencia da fórma do tubo gelatinozo; no *Spongomonas* são mais ovalares ou arredondados. Quando os individuos saem dos seus envólucros gelatinozos, o que comumente acontece, são todos redondos ou ameboides, e não se podem diferençar um do outro. O estabelecimento de dous generos, bazeado sómente na fórma dos envólucros gelatinozos, parece-nos carecer de baze e, mesmo, o direito de separação das especies póde ser posto em duvida, porquanto na formação do envólucro gelatinozo tivemos ocazião de ver fórmas de tranzição entre os 2 tipos. Se, não obstante, nos rezolvemos a aceitar duas especies, fazemol-o porque na *Sp.* (*Rhipidodendron*) *splendida*, as granulações do envólucro gelatinozo são sempre menores que as da *Spongomonas uvella* de Stein.

Nesta ultima fórma incluiremos as diversas especies que Stein colocou no seu genero *Spongomonas*, porque não nos parece ser possivel estabelecer distinção de especies bazeada nas fórmas das colonias.

Envoltorio gelatinozo. — Como o aspeto e formação do envólucro gelatinozo da colonia já foram muito bem descritos e figurados por Stein bastam sobre ellas curtas informações, á guiza de introdução. Uma olhada sobre as figuras 18 a 20 da Est. 5 orienta, sem mais, sobre ellas. Já Stein notára que o envólucro gelatinozo aprezenta estrutura granuloza. Como se vê em nossas figuras 18 a 20 da Est. 5 existem incluidas na substancia fundamental esféras muito conchegadas de côr pardacenta e de maior densidade; não fizemos pesquizas quimicas sobre a constituição dellas. Como já dissemos na *Spongomonas splendida* estas esféras da camada gelatinoza são menores que na *Spongomonas uvella* o que, por ora, póde ser considerado como carateristica da especie (Est. 5, Fig. 18 e 19). Não obstante, é possivel que os longos tubos gelatinozos da *Spongomonas splendida* nova se rezolvam em massas gelatinozas esfericas, o que se póde supôr por algumas observações, e que, por este processo, se formem as grandes esféras por

bei dem *Rhipidodendron splendidum* von Stein mehr lang gestreckt infolge der Form der Gallertröhre, bei *Spongomonas* mehr oval oder kugelig. Falls die Individuen jedoch aus ihrer Gallerthülle heraustreten, was häufig vorkommt, sind sie alle kugelig oder amoeboid, und können überhaupt nicht voneinander unterschieden werden. Eine Aufstellung zweier Gattungen allein auf Grund der Gallerthülle erscheint uns daher unbegründet, ja es kann sogar die Berechtigung einer Speciestrennung in Zweifel gezogen werden, da wir in der Ausbildung der Gallerthülle auch Uebergangsformen zwischen den beiden Typen beobachtet haben. Wenn wir uns dennoch entschliessen, zwei Arten anzunehmen, so liegt der Grund darin, dass bei *Sp.* (*Rhipid.*) *splendida* die Körner der Gallerthülle stets kleiner sind als bei der Stein'schen *Spongomonas uvella.* Unter letzten Art fassen wir die verschiedenen Arten zusammen, die Stein zu seiner Gattung *Spongomonas* gestellt hat, da uns eine Speciesunterscheidung auf Grund der Form der Kolonie nicht durchführbar erscheint.

Gallerthülle. — Da die Form und Entstehung der kolonialen Gallerthüllen schon von Stein treffend beschrieben und abgebildet wurde, mögen die kurzen einleitenden Angaben darüber genügen. Ein Blick auf die Figuren 18 bis 20, Taf. 5, orientiert zudem ohne Weiteres darüber.

Stein hatte schon angegeben, dass die Gallerthülle körnig gebaut sei. Wie man in unseren Fig. 18 bis 20, Taf. 5, sieht, sind in einer Grundsubstanz dicht gedrängt Kugeln einer bräunlich aussehenden, dichteren Masse eingelagert; Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung haben wir nicht unternommen. Wie schon erwähnt, sind bei *Spong. splendida* diese Gallertkugeln stets kleiner als bei *Sp. uvella*, was vorderhand als Speciescharakter angesehen werden mag (Fig. 18 und 19). Möglich wäre es allerdings, dass die langen Gallertröhren von jungen *Sp. splendida* sich in mehr kugelige Gallertmassen umwandeln, worauf einige Beobachtungen hinweisen,

entumecimento das pequenas, havendo assim uma unica especie dellas. Só o estudo de culturas poderá elucidar a questão.

Aspeto da celula. — Na *Sp. splendida*, em virtude da fórma dos tubos gelatinozos, os individuos são alongados, cilindricos, tendo, na maioria, a extremidade anterior truncada (Fig. 18, Est. 5). Os individuos da *Spong. uvella* são ovais ou esfericos (Fig. 19, Est. 5). Muitas vezes os individuos das 2 especies abandonam seus envólucros gelatinozos e, nesse cazo, os da *Sp. splendida* aprezentam-se tambem ovais ou esfericos, como já o figurára Stein. Estes individuos livres se podem fixar a qualquer sustentaculo, a uma laminula, p. ex., e tomar então fórmas ameboides (Fig. 28 e 29, Est. 6). Formam frequentemente pequenos pseudopódios e nesse estado fazem lembrar certas especies de *Cercobodo*. Quando perdem os flajelos — o que póde acontecer, tanto dentro, como fóra do envólucro gelatinozo — é muito facil a possibilidade de confundil-os com amebas. Muitas vezes, encontrámos, tambem, unidades, assim como grupos de individuos sem flajelos, que aprezentavam pseudopódios muito longos, acuminados, dispostos como na *A. radiosa*, verdadeiros nematopodios, por meio dos quais se achavam fundidos diversos individuos, á guiza de plasmodio (Fig. 21, Est. 5). Si se não conhecesse bem a geneze dessas formações, ser-se-ia levado a acreditar que se tratava de organismos amebiformes, como uma especie de *Nuclearia*. Que, na realidade, se trata de verdadeira *Spongomonas* mostram-no, não só a estrutura do nucleo, mas, tambem, a completa concordancia da mitoze que é extremamente carateristica.

Plasma. — O plasma é grosseiramente vacuolizado, com paredes espessas, que, por sua vez, são finamente alveoladas. Não existe pelicula especial ou periplasto, e d'aí a possivel variabilidade ameboide, fóra do envólucro gelatinozo. Muitas vezes, encontram-se vacuolos nutritivos com bacterios e outros restos alimentares. Não podemos dar informação segura de como são

und dass dabei durch Aufquellung die grösseren Kugeln aus dem kleinen entstünden, mithin doch nur eine Art vorläge. Darüber können nur genauere Zuchtversuche entscheiden.

Gestalt der Zelle. — Bei *Sp. splendida* sind die Individuen entsprechend der Form der Gallertröhre lang gestreckt, cylindrisch, am Vorderende meist etwas abgestutzt (Fig. 18, Taf. 5). Die Individuen von *Sp. uvella* sind oval oder kugelig (Fig. 19, Taf. 5). Häufig verlassen die Individuen beider Arten ihre Gallerthülle und in diesem Fall sind auch die von *Sp. splendida* oval oder kugelig, wie sie auch schon Stein abgebildet hat. Diese freien Individuen können sich nun auf irgend einer Unterlage, z. B einem Deckgläschen festsetzen und nehmen dann amoeboide Formen an (Fig 28 u. 29, Taf. 6). Sie bilden dabei meist nur ganz kurze Pseudopodien und in diesem Zustande erinnern sie an gewisse *Cercobodo*-Arten. Wenn sie dagegen, was sowohl innerhalb der Gallerthülle, als ausserhalb derselben häufig vorkommt, die Geissel verloren haben, ist leicht eine Verwechslung mit Amoeben möglich. Mehrmals fanden wir auch einzelne, sowie Gruppen von geissellosen Individuen, die sehr lange zugespitzte *radiosa*artige Pseudopodien resp. Filopodien aufwiesen, wobei verschiedene Individuen sogar plasmodial verschmolzen waren (Fig. 21, Taf. 5). Wenn man nicht die genaue Genese dieser Formen kennen würde, würde man sie unbedingt für amoebenartige Organismen, etwa eine *Nuclearia*-Art halten. Dass sie aber tatsächlich zu *Spongomonas* gehören, zeigt nicht nur der Bau des Kernes, sondern auch die vollständige Uebereinstimmung der äusserst charakteristischen Mitose.

Plasma. — Das Plasma ist ziemlich grob vakuolär mit dicken, ihrerseits wieder fein wabigen Wänden. Eine besondere Pellicula oder Periplast fehlt, daher auch die Fähigkeit ihrer amoeboiden Veränderlichkeit ausserhalb der Gallerthülle. Oefters findet man Nahrungsvakuolen mit Bakterien und anderen Nahrungsresten. Ueber die Art

injeridos os alimentos ; assim mesmo, podemos supôr que, no estado de liberdade, os alimentos sejam apreendidos por todos os lados do corpo, como nas amebas, emquanto no interior do envólucro gelatinozo a tomada dos alimentos só se faça pela extremidade anterior livre.

Flajelos. — Os flajelos são pares e de igual comprimento ; ás vezes se acham aderentes á porção inferior, o que revela o fato de que existem fibras de esqueleto, que foram revestidas de camada de plasma liquido, como se tem verificado em diversos flajelos dos flajelados. Nacem na extremidade anterior da celula, apoz pequeno percurso intracelular, de dupla granulação bazal (diplozoma) que, na maioria das vezes se acha afastada completamente do nucleo (Est. 5, Fig. 22 e Est. 6, Fig. 28 e 30). A's vezes e, sobretudo, por ocazião de formação de novos flajelos, p. e., apoz a divizão, o diplozoma se acha ligado ao cariozoma do nucleo por meio do rizoplasto (Est. 6, Fig. 27 e 44). Como tal aspeto é encontrado, justamente, por ocazião da formação do flajelo, póde ser elle considerado tipico, como acontece, de modo geral, entre as protomonadinas ; a figura habitual de inserção do flajelo sem rizoplasto póde ser atribuida a ulterior dissolução deste. Além dessas duas inserções normais dos flajelos existe ainda terceira, muito mais rara, em que o diplozoma está diretamente situado sobre a membrana nuclear (Est. 5, Fig. 26 e Est. 6, Fig. 29). Neste cazo, a membrana nuclear póde ser distendida sob a fórma de prolongamento afilado (Est. 5, Fig. 26). Este modo de inserção corresponde, assim, com a observada nas rizomastijinas. E' possivel que se trate aqui tambem de aproximação ulterior do diplozoma apoz dissolução do rizoplasto. Outra possibilidade muito plauzivel de interpretação desse modo de inserção do flajelo será discutida quando tratarmos da divizão nuclear.

Nucleo. — O nucleo é tambem aqui o nucleo veziculozo tipico dos flajelados, com grande cariozoma. E' separado do

der Nahrungsaufnahme können wir keine sicheren Angaben machen ; doch darf man wohl annehmen, dass im nackten Zustande die Nahrung allseitig nach Art der Amoeben aufgenommen wird, in der Gallerthülle dagegen nur an dem freien Vorderende.

Geisseln. — Die Geisseln sind in der Zweizahl vorhanden und gleich lang ; manchmal sind sie im unteren Teil verklebt, was darauf hinweist, dass festere Skelettfäden vorhanden sind, die von einer flüssigen Plasmaschicht überzogen werden, wie das für verschiedene Flagellatengeisseln erwiesen ist. Sie entspringen im Vorderende, aber ein Stück im Innern der Zelle, von einem doppelten Basalkorn (Diplosom), das meist völlig gesondert vom Kerne ist (Taf. 5, Fig. 22 u. Taf. 6, Fig. 28 u. 30). Manchmal und zwar vor allem bei einer Neubildung der Geissel, z. B. nach der Teilung, ist das Diplosom durch einen Rhizoplasten mit dem Caryosom des Kernes verbunden (Taf. 6, Fig. 27, 44). Da solche Bilder gerade bei der Neubildung von Geisseln angetroffen werden, kann das als das Typische gelten, wie wir es ja sonst allgemein bei Protomonadinen finden, und das gewöhnliche Bild der Geisselinsertion ohne Rhizoplast kann auf nachträgliche Einschmelzung desselben zurückgeführt werden. Ausser diesen beiden normalen Arten der Geisselinsertion gibt es noch eine sehr seltene dritte, wobei das Diplosom direkt der Kernmembran aufsitzt (Taf. 5, Fig. 26 u. Taf. 6, Fig. 29). Dabei kann die Kernmembran zu einem zugespitzten Fortsatz ausgezogen sein (Taf. 5, Fig. 26). Diese Art der Insertion stimmt somit mit der der *Rhizomastiginen* überein. Doch handelt es sich hier vielleicht nur um ein nachträgliches Heranrücken des Diplosoms nach Einschmelzung des Rhizoplasten. Eine andere sehr wahrscheinliche Möglichkeit der Entstehung dieser Art der Geisselinsertion werden wir noch bei der Kernteilung besprechen.

Kern. — Der Kern ist auch hier ein typischer bläschenförmiger Flagellatenkern mit grossem Caryosom. Gegen das Plasma ist er durch eine ziemlich derbe Membran

plasma por membrana de consistencia dura. Por meio de diferenciações adequadas, póde-se caraterizar, no cariozoma, o centriolo (Est. 5, Fig. 20, 26 e Est. 6, Fig. 27).

Na maioria das vezes, a substancia cromatica se acha reunida no cariozoma, cuja estrutura é nitidamente vizivel, como formada de 2 substancias diversas (cromatina e plastina) (Est. 5, Fig. 26 e Est. 6, Fig. 28), a zona de suco nuclear é completamente sem estrutura. Muitas vezes se podem encontrar nella, tambem, paredes de linina e granulações de cromatina, estas ultimas comumente estão grupadas paralelamente ao cariozoma (Est. 5, Fig. 20 e Est. 6, Fig. 30) e se aproximam mais tarde da membrana nuclear sobre a qual formam, nas mais das vezes, depozito homojenio. Póde-se, tambem, verificar que derivam as granulações de cromatina de toda a superficie do cariozoma (Est. 5, Fig. 26). Todas essas figuras são reprezentação das variações ciclicas que se exercitam no cariozoma [Hartmann e v. Prowazek (1907)] e que aqui, são mais evidentes que no *Cercomonas*.

Multiplicação. — Na multiplicação aqui tambem os flajelos são sempre eliminados ; ao menos, na maioria dos estádios de divizão não é possivel se ver nem vestijio de flajelo e, sobretudo, nunca nos estádios primordiais. Se nos estádios mais adiantados elles aparecem, trata-se, como ainda veremos, de nova formação. A divizão nuclear começa com a divizão do centriolo, de modo que logo no principio os centriolos filhos, como no *Cercomonas*, fazem saliencia dos lados opostos do cariozoma (Est. 6, Fig. 31). No cariozoma póde-se agora observar, sua separação em 2 partes : substancia acromatica (plastina) e blócos compactos de cromatina (Est. 6, Fig. 31 e 32) e simultaneamente se nota a perda da fórma esferica (Est. 6, Fig. 32-33). Nestes estádios, vê-se claramente que os centriolos filhos se acham ligados entre si por delgada centrodesmoze. Forma-se, então, á custa das massas de cromatina que já anteriormente se tinham disposto em fórma de anel,

abgegrenzt. Im Caryosom kann man bei geeigneter Differenzierung ein Centriol nachweisen (Taf. 5, Fig. 20, 26, Taf. 6, Fig. 27). Meist ist alle färbbare Substanz im Caryosom vereinigt, dessen Zusammensetzung aus zwei verchiedenen Substanzen (Chromatin und Plastin) zu Zeiten recht deutlich ist (Taf. 5, Fig. 26, Taf. 6, Fig. 28) ; die Kernsaftzone ist dann ganz strukturlos. Oft kann man auch in ihr Lininwände und Chromatinkörner beobachten ; letztere umgeben vielfach in einer parallelen Zone das Caryosom (Taf. 5, Fig. 20 u. Taf. 6, Fig. 30) und rücken später an die Kernmembran, wo sie meist einen gleichmässigen Belag bilden. Manchmal kann man auch die Ablösung der Chromatinkörner an der ganzen Oberfläche des Caryosoms beobachten (Taf. 5, Fig. 26). Alle diese Bilder sind der Ausdruck von zyklischen Veränderungen, die sich am Caryosom abspielen (Hartmann u. v. Prowazek 1907), die hier deutlicher zu Tage treten als bei der *Cercomonas*.

Fortpflanzung. — Bei der Fortpflanzung werden auch hier die Geisseln stets abgeworfen ; wenigstens ist bei den meisten Teilungsstadien keine Spur einer Geissel zu beobachten, vor allem nie in den frühen Stadien. Wenn in späteren Stadien solche vorkommen, dann handelt es sich aber, wie wir noch sehen werden, um Neubildung.

Die Kernteilung beginnt mit der Teilung des Centriols, wobei die Tochtercentriole, wie bei *Cercomonas*, zunächst über die Caryosomgrenze an entgegengesetzten Seiten hinausragen (Taf. 6, Fig. 31). An dem Caryosom kann man nun die Sonderung in zwei Partien, eine mehr achromatische Substanz (Plastin) und compaktere Chromatinbrocken beobachten (Taf. 6, Fig. 31, 32) und gleichzeitig verliert es auch seine kugelige Gestalt (Taf. 6, Fig. 32, 33). An diesen Stadien sieht man deutlich, dass die Tochtercentriole durch eine feine Centrodesmose verbunden sind. Nun bildet sich aus den chromatischen Brocken, die schon vorher ziemlich ringförmig angeordnet waren (Fig. 33), eine ringförmige Aequatorialplatte, während der achromatische

uma placa equatorial anular, emquanto a porção acromatica de plastina constitue em torno da centrodesmoze o fuzo central, ficando, então, de novo invizivel esse filamento (Est. 5, Fig. 22 e 23 e Est. 6, Fig. 34 a 36). Assim se forma a figura de mitoze, em extremo carateristica para nosso genero, na qual as placas cromozomicas vistas de perfil excedem muito o respetivo fuzo (fuzo central). E' digno de nota que nesse estádio os centriolos na maioria já se dividiram de novo (Est. 6, Fig. 34 a 36). Aliaz, a divizão precoce do centriolo já foi observada em outros protozoarios (v. Prowazek 1908, Hartmann e Hammer 1909) e é, talvez, uma condição geral. Aqui ella se relaciona eventualmente com a formação do flajelo.

Como dissemos, a placa equatorial forma anel compacto, e só com forte diferenciação se póde verificar ser ella constituida de granulos izolados — cromozomios. Não foi possivel determinar-lhes o numero, tão compactamente aderentes e tão pequenas são essas granulações. Mais tarde, espessa-se a placa equatorial, sinal de inicio da sua divizão e vê-se por leves incizuras perifericas que já se perfez a duplicação (Est. 6, Fig. 35). Breve, este fato se torna mais claro, mercê da formação de tenue fenda lonjitudinal (Est. 6, Fig. 37), dando-se então a completa separação das placas filhas. (Est. 6, Fig. 38).

Até o referido estádio a membrana tinha conservado sua fórma esferica primitiva, a figura completa de divizão, assim como os centriolos já novamente divididos se acham dentro della (Est. 5, Fig. 22 e Est. 6, Fig. 34 a 37). Daqui por diante começa a se dissolver, como mostra a Fig. 38 da Est. 6, onde se vê apenas conservada na porção inferior e esquerda, parte da membrana. O fuzo jaz, então, inteiramente no plasma e estira-se fortemente, em sentido lonjitudinal, em virtude do crecimento da porção do fuzo existente entre as 2 placas filhas (Est. 6, Fig. 39). A hipoteze do crecimento da parte media do fuzo para concluzão da mitoze, parece-nos, á vista da

Plastinteil um die Centrodesmose eine centrale Spindel bildet, wobei erstere nun wieder unsichtbar wird (Taf. 5, Fig. 22, 23 u. Taf. 6, Fig. 34 bis 36). So entsteht eine für unsere Gattung äusserst charakteristische Mitosefigur, bei der die Chromosomenplatte in Seitenansicht die eigentliche Spindel (Centralspindel) weit überragt. Bemerkenswert ist, dass in diesen Stadien die Centriolen meist schon wieder geteilt sind (Taf. 6, Fig. 34 bis 36). Die frühzeitige Teilung der Centriolen ist neuerdings auch sonst bei Protozoen beobachtet (v. Prowazek 1908, Hartmann und Hammer 1909) und vielleicht von allgemeiner Bedeutung. Hier steht sie eventuell mit der Geisselbildung in Beziehung.

Die Aequatorialplatte bildet, wie gesagt, einen kompakten Ring ; nur bei starker Differenzierung kann man sehen, dass sie sich aus einzelnen Körnern, Chromosomen, zusammensetzt ; doch war uns bei der Kleinheit des Objekts und der kompakten Verklebung der Chromosomen eine Zählung nicht möglich. Später verdickt sich die Aequatorialplatte, ein Zeichen ihrer beginnenden Teilung und man sieht an leichten peripheren Einkerbung (Taf. 6, Fig. 35), dass die Verdoppelung schon stattgefunden hat. Bald wird sie durch einen feinen Längsspalt noch deutlicher (Taf. 6, Fig. 37) und die vollständige Trennung in die Tochterplatten tritt ein (Taf. 6, Fig. 38).

Bis zu diesen Stadien war die Kernmembran in ihrer ursprünglichen kugeligen Form erhalten, die ganze Teilungsfigur sammt den schon wieder geteilten Centriolen befand sich innerhalb derselben (Taf. 5, Fig. 22 u. Taf. 6, Fig. 34—37). Von nun an beginnt sie sich aufzulösen, wie Fig. 38, Taf. 6, zeigt, wo nur noch an der unteren linken Seite ein Teil der Membran erhalten ist. Die Spindel liegt jetzt ganz im Plasma und streckt sich durch Wachstum der zwischen den Tochterplatten gelegenen Partie der Spindel stark in die Länge (Taf. 6, Fig. 39). Die Annahme eines Wachstums des mittleren Spindelteiles zur Durchführung der Mitose scheint uns in Anbetracht der hier vorliegenden Bilder

figura a que aludimos, absolutamente necessaria, ficando excluida outra qualquer explicação mecanica. Seja ainda acentuado que o crecimento se póde dar mais ativamente num dos lados, o que produz a incurvação da figura do fuzo (Est. 6. Fig. 39). Começa, então, a dissolução deste e a reconstrução dos nucleos filhos. A parte media do fuzo retrae-se (Est. 6, Fig. 40) o que de novo permite que se veja a centrodesmoze (Est. 6, Fig. 40 e 41). Esta se conserva por mais tempo e, ás vezes, é ainda vizivel apoz a formação dos nucleos filhos (Est. 6, Fig. 43). Em outros cazos, toda a parte media do fuzo, juntamente com a centrodesmoze são rapidamente dissolvidas e vê-se entre os nucleos filhos, em trabalho de reconstrução, apenas uma zona plasmatica granuloza um pouco mais intensamente córada, emquanto os cónes polares do fuzo, ainda se acham conservados no interior das novas membranas nucleares (Est. 6, Fig. 42).

A reconstituição dos nucleos filhos faz-se do seguinte modo: em torno das placas filhas, que, na maioria, ainda conservam seus cónes nucleares forma-se nova zona de suco nuclear e que se limita com o plasma por meio duma membrana. Dá-se a involução do cóne do fuzo, (Est. 6, Fig. 40, á esquerda, 41 e 43) e o centriolo coloca-se na placa filha — que perde, ao mesmo tempo, a forma alongada e se transforma em cariozoma esferico, — ficando a principio colada fóra della (Est. 6, Fig. 43, á esquerda) e vólta mais tarde para o interior do cariozoma (Est. 6, Fig. 43, á direita e 44).

Os novos flajelos, em regra, formam-se só depois do termo da divizão nuclear, sendo que o cariozoma se divide heteropolarmente, e perpendicularmente ao eixo da divizão anterior, formando-se assim um rizoplasto e os corpusculos bazais (Est. 6, Fig. 44, á direita). Como já, por ocazião da mitoze, existissem 2 centriolos, pode-se pensar em 2 modalidades: ou, por ocazião dessa divizão heteropolar os mesmos foram apenas distribuidos, sendo preunabweislich und eine andere mechanische Erklärung ausgeschlossen. Hervorgehoben sei noch, dass das Wachstum auf einer Seite stärker sein kann, wodurch eine gebogene Spindelfigur entsteht (Taf. 6, Fig. 39).

Nun beginnt die Auflösung der Spindel und die Rekonstruktion der Tochterkerne. Der mittlere Teil der Spindel schrumpft zusammen (Taf. 6, Fig. 40), wobei die Centrodesmose wieder zu Tage treten kann (Taf. 6, Fig. 40 u. 41). Letztere bleibt am längsten erhalten und ist manchmal noch nach Neubildung der Tochterkerne wahrzunehmen (Taf. 6, Fig. 43). In anderen Fällen wird der ganze mittlere Teil der Spindel sammt der Centrodesmose sehr rasch aufgelöst und man sieht zwischen den in Rekonstruktion begriffenden Tochterkernen nur eine etwas dunkler gefärbte körnige Plasmazone, während die polaren Kegel der Spindel inerhalb der neuen Kernmembranen noch erhalten sind (Taf. 6, Fig. 42).

Die Rekonstruktion der Tochterkerne geschieht in der Weise, dass sich um die Tochterplatten mit ihren meist noch erhaltenen Spindelkegeln eine neue Kernsaftzone bildet und sich durch eine Membran gegen das Plasma abgrenzt. Der Spindelkegel bildet sich dann zurück (Taf. 6, Fig. 40 links, 41 und 43) und das Centriol liegt der Tochterplatte, die gleichzeitig ihre gestreckte Form verliert und sich zu einem kugeligen Caryosom umwandelt, anfangs aussen noch an (Taf. 6, Fig. 43 links) und rückt später in das neue Caryosom hinein (Taf. 6, Fig. 43 rechts, 44).

Die neuen Geisseln werden in der Regel erst nach vollendeter Kernteilung gebildet, indem das Caryosom sich heteropol teilt und zwar senkrecht zur vorausgegangenen Kernteilungsaxe, wodurch ein Rhizoplast und die Basalkörper (Diplosom) entstehen (Taf. 6, Fig. 44 rechts). Da schon bei der Mitose Doppelcentriolen vorhanden waren, sind zwei Möglichkeiten denkbar: entweder sind dieselben bei dieser heteropolaren Teilung einfach verteilt worden, wobei der eine Pol (Basalkörper) zur Bildung des Diplosoms sekundär eine zweite

cizo que um dos pólos (corpusculo bazal) para formar o diplozoma se dividisse segunda vez, ou então, os duplos centriolos se dividiram simultaneamente e formaram, assim, diretamente o diplozoma. Os dous centriolos restantes apareceriam, então, no estado de repouzo do nucleo, consecutivamente á intima contiguidade em que se acham, como centriolo unico (Est. 5, Fig. 26).

Em ambos os cazos o modo de formação dos flajelos concorda, em principio, com o do *Cercomonas*. Além disso, observa-se ainda um segundo modo muito interessante em que, já no estádio da placa equatorial, se formam, dos centriolos, novos flajelos filhos. Neste cazo, o nucleo e o fuzo se dislocam inteiramente para a superficie da celula, ficando o eixo lonjitudinal do fuzo transversalmente colocado á superficie da celula (Est. 5, Fig. 23 e Est. 6, Fig. 36). O fuzo, especialmente seus pólos, dentro da cavidade nuclear, mais ainda se aproxima da superficie celular o que faz com que tenha dispozição obliqua (Est. 5, Fig. 23). Nos pólos (centriolos) nota-se um ou dous flajelos. Formação dos flajelos á custa dos centriolos, durante a mitoze só foi observada até agora uma só vez por Berliner (1909) em um flajelado, a euglenoidea *Copromonas major* e ainda aí todo o processo se completa no interior do protoplasma. As figuras encontradas na *Spongomonas* lembram extraordinariamente as assinaladas por Meves na espermatojéneze da borboleta *Phalaena bucephala*, em que, na mitoze dos espermatócitos de 1.ª ordem se encontram 2 flajelos, os futuros filamentos axiais das espermias, apensos aos duplos centriolos.

Apoz a reconstituição dos nucleos filhos os flajelos, no principio, nacem do nucleo, por isso que o diplozoma ainda se acha em contato com o cariozoma recemconstituido (Est. 5, Fig. 24, em cima), depois, afasta-se do nucleo para o plasma, estabelecendo-se, assim, a inserção normal do flajelo (Est. 5, Fig. 24, em baixo). Talvez a maneira de se inserir dos flajelos na membrana nuclear, acima descrita (Est. 5, Teilung erfahren müsste; oder aber die doppelten Centriole teilen sich gleichzeitig und bilden so direkt das Diplosom. Das zurückgebliebene Doppelcentriol würde dann im Ruhestadium des Kernes infolge fester Aneinanderlagerung scheinbar als einfaches Centriol (Taf. 5, Fig. 26) erscheinen. Bei beiden Möglichkeiten stimmt der Modus der Geisselentstehung prinzipiell mit dem von *Cercomonas* überein.

Daneben kommt aber noch ein sehr interessanter zweiter Modus vor, indem schon im Stadium der Aequatorialplatte die neuen Tochtergeisseln von den Centriolen aus gebildet werden. In diesem Falle rückt der Kern mit der Spindel ganz an die Oberfläche der Zelle, wobei sich die Längsaxe der Spindel quer zur Zelloberfläche einstellt (Taf. 5, Fig. 23 u. Taf. 6, Fig. 36). Die Spindel, speziell ihre Pole, ist ausserdem innerhalb der Kernhöhle noch mehr an die Seite der Oberfläche verschoben, sodass sie ein schiefes Aussehen darbietet (Taf. 5, Fig. 23). An den Polen (Centriolen) bemerkt man eine oder zwei Geisseln. Eine Entstehung der Geisseln von den Centriolen während der Mitose hat bisher nur Berliner (1909) bei einem Flagellaten, der Euglenoidee *Copromonas major* beobachtet, doch vollzieht sich der Vorgang dort ganz im Innern des Protoplasmas. Die bei *Spongomonas* gefundenen Bilder erinnern ausserordentlich an die, welche Meves von der Spermatogenese des Schmetterlings *Phalaena bucephala* gegeben hat, wo bei der Mitose der Spermatocyten erster Ordnung ebenfalls zwei Geisseln, die künftigen Axenfäden der Spermien an den doppelten Centriolen sich finden. Nach Rekonstruktion der Tochterkerne entspringen die Geisseln zunächst noch aus dem Kerne, indem das Diplosom noch dem neu gebildeten Caryosom anliegt (Taf. 5, Fig. 24 oben); nachträglich rückt es aus dem Kerne ins Plasma, wodurch wir die normale Geisselinsertion erhalten (Taf. 5, Fig. 24 unten). Vielleicht ist die oben beschriebene Art der Geisselinsertion an der Kernmembran (Taf. 5, Fig. 25 u. Taf 6, Fig. 29) auf diesen Modus der Geisselbil-

Fig. 25 e Est. 6, Fig. 29) se relacione a este modo de formação dos flajelos em que o diplozoma ao sair do nucleo permanece nesse logar. Infelizmente, por cauza da pequenez do objeto não pudemos descobrir se existem nos pólos do fuzo, por ocazião desta formação dos flajelos, 2, 3 ou 4 centriolos. Inclinamo-nos a aceitar uma das 2 ultimas hipotezes, porquanto já no estado de completa formação (Est. 5, Fig. 24, em baixo e 25) existem 3 centriolos, o do cariozoma e os 2 do diplozoma.

O fuzo nuclear acha-se colocado na celula, em raros cazos, no começo, no sentido do seu eixo lonjitudinal (*Spongomonas splendida*) (Est. 5, Fig. 22) as mais das vezes transversalmente (Est. 5, Fig. 23 e Est. 6, Fig. 36). Isto pode constituir a regra para as fórmas esfericas ; em todo o cazo os novos flajelos e o plano de divizão celular são sempre perpendiculares ao eixo do fuzo (Est. 6, Fig. 36, 44 e 45). Por conseguinte a divizão celular póde ser considerada como divizão lonjitudinal. Na *Spongomonas splendida* encontrámos, ao contrario, os nucleos filhos quazi sempre um atraz de outro no sentido do eixo lonjitudinal da celula (Est. 5, Fig. 24 e 25). Aqui tambem a forma dos cariozomas (placas filhas) muitas vezes parece indicar que, se tendo dado a divizão do nucleo no sentido lonjitudinal, em virtude da falta de espaço decorrente da fórma do envoltorio gelatinozo, dá-se uma inversão de logar (Est. 5, Fig. 25). Nessas fórmas não vimos estádios da divizão celular ; provavelmente se dá aqui uma divizão mais obliqua, aproximando-se da divizão transversa, cauzada pela angustia de espaço no interior do tubo gelatinozo.

Classificação. — Já manifestámos, em começo, nossa opinião respeito á situação de nossa forma em determinado genero e especie. Não podemos decidir se *Cladomonas*, o 3.º genero deste grupo estabelecido por Stein, é justificado, porque não encontrámos tais formas. Stein formou para os seus 3 generos uma familia especial, as *Spongomonadinæ*, no que foi seguido por Buetschli (1883—1887) e por

dung zurückzuführen, indem das Diplosom beim Herausrücken aus dem Kerne an dieser Stelle liegen bleibt. Leider konnten wir bei der Kleinheit des Objektes nicht ermitteln, ob an den Polen der Spindel zwei, drei oder vier Centriolen bei dieser Geisselbildung vorhanden sind. Wir sind geneigt eine der beiden letzteren Möglichkeiten anzunehmen, da ja im ausgebildeten Zustand (Taf. 5, Fig. 24 unten u. 25) unbedingt drei Centriole vorhanden sind, nämlich das des Caryosoms und die beiden des Diplosoms.

Die Kernspindel liegt in der Zelle in seltenen Fällen anfangs in der Längsaxe *Spongomonas splendida* (Taf. 5, Fig. 22), meist quer zu ihr (Taf. 5, Fig. 23 u. Taf. 6, Fig. 36). Letzteres mag für die kugeligen Formen wohl allgemein gelten, jedenfalls stehen die neuen Geisseln und die Zellteilungsebene immer senkrecht zur Spindelaxe (Fig. 36, 44, 45). Die Zellteilung kann mithin als eine Längsteilung gelten. Bei *Spongomonas splendida* fanden wir dagegen die Tochterkerne fast immer hinter einander in der Längsaxe der Zelle (Fig. 24, 25).

Doch deutete auch hier vielfach die Form der Caryosome (Tochterplatten) darauf hin, dass die Kernteilung quer zu Längsaxe vor sich gegangen ist und erst nachträglich infolge des durch die Gallertröhre bedingten Platzmangels eine Verschiebung stattgefunden hat (Fig. 25). Stadien der Zellteilung haben wir bei dieser Form nicht gesehen, vermutlich ist es eine mehr schiefe, der Querteilung sich nähernde Teilung, verursacht durch den engen Raum in der Gallertröhre.

Systematische Stellung. — Unsere Meinung bezüglich der Art- und Gattungszugehörigkeit unserer Formen wurde schon einleitend auseinandergesetzt. Ob *Cladomonas*, die dritte hierher gehörige Gattung von Stein als solche berechtigt ist, können wir nicht angeben, da wir diese Form nicht antrafen. Stein hat für seine drei Gattungen eine eigene Familie aufgestellt, die *Spongomonadinen*, worin ihn Buetschli (1883-1887) und Blochmann folgten. Da-

Blochmann. Contrariamente, já Senn declarou que pela estrutura celular estas formas correspondiam ás *Amphimonadaceæ*, devendo-se considerar como secundaria a secreção gelatinoza. Concordamos com elle em que essas formas devam entrar para a familia das « *Amphimonadaceæ* ».

3. Cyathomonas truncata. Fres.

Este flajelado já foi estudado por Buetschli e Fisch (1885) que já estabeleceram perfeitamente sua estrutura. Aqui transcrevemos simplesmente a descrição que delle faz Senn, segundo as observações daquelles autores :

« Oval, cortado obliquamente na extremidade anterior, fortemente comprimido dos lados, rijo. Comprimento : 16 a 23 μ. A' extremidade anterior do corpo, flajelos do comprimento de $^2/_3$ do corpo, que batem contra a porção anterior, truncada do corpo. Este se aprofunda numa cavidade que contem a abertura bucal que é de cada lado cercada duma serie de granulações refrinjentes ; esse anel bucal, visto de perfil aparece como uma listra escura. Periplasto bastante compacto, lizo. Abaixo do anel uma especie de escavação bucal. Um vacuolo contrátil no angulo obtuzo da extremidade anterior. Nucleo veziculozo, um pouco para traz do meio do corpo, aproximando-se da borda que sustenta o flajelo (face dorsal). Movimentos natatorios livres, ficando o maior dos eixos laterais em plano horizontal. Descreve habitualmente circulos. Pela parte anterior absorve alimentos solidos (bacterios etc.) Divizão lonjitudinal ».

Em alguns pontos apenas, temos que completar esta descrição da estrutura.

Plasma. — O plasma é bastante alveolado, geralmente dotado de grandes vacuolos que bastas vezes encerram restos alimentares (Est. 7, Fig. 46). Fisch notou que o interior da celula é atravessado por septos de substancia fortemente córavel. Não vimos tais figuras, não só nos preparados a fresco, como nos córados. O

gegen hatte schon Senn betont, dass diese Formen im Zellbau mit den *Amphimonadaceen* übereinstimmen und die Gallertausscheidung als sekundär zu betrachten ist. Wir sind mit ihm der Meinung, dass diese Formen in die Familie der *Amphimonadaceen* einzureihen sind.

3. Cyathomonas truncata Fres.

Dieses Flagellat ist schon von Buetschli und Fisch (1885) studiert worden, die seinen Bau treffend geschildert haben. Wir setzen einfach die Beschreibung hierher, die Senn nach den Befunden dieser Autoren gegeben hat :

« Oval, vorn schief abgestutzt, seitlich stark zusammen gedrückt, starr. Länge : 16 bis 23 μ. An der vorderen Körperspitze zwei drittelkörperlange gegen das abgestützte Vorderende hinschlagende Geisseln. Letzteres augehöhlt, im Grunde die Mundöffnung enthalted, welche jederseits von einer Reihe stark lichtbrechenden Körner umschlossen ist ; dieser Mundring erscheint in der Seitenansicht als dunkler Strich. Periplast ziemlich fest, glatt. Unterhalb des Mundringes eine Art Schlundhöhlung. Eine kontraktile Vakuole in der stumpfen Ecke des Vorderendes. Kern bläschenförmig, etwas hinter der Körpermitte, dem die Geissel tragenden Rande (Rückenseite) genähert. Freie Schwimmbewegung, wobei die Breitseite horizontal liegt. Gewöhnlich Kreise beschreibend. Aufnahme fester Nahrung (Bakterien etc.) am Vorderende. Längsteilung. »

Diese Beschreibung des Baues haben wir nur in einigen Punkten zu ergänzen.

Plasma. — Das Plasma ist ziemlich feinwabig, aber meist mit grösseren Vakuolen durchsetzt, die vielfach Nahrungsreste enthalten (Taf. 7, Fig. 46, etc.). Fisch hat angegeben, dass das Zellinnere von Balken stark färbarer Substanz durchzogen werde. Solche Bilder haben wir weder im Leben noch im gefärbten Präparate gesehen ; was Fisch abbildet, sind wohl nur stärkere Plasmapartien um grös-

que Fisch figurou, provavelmente, não são mais que as porções do plasma em torno de grandes vacuolos e que talvez, em virtude de má fixação podem aprezentar tal aspeto.

No que respeita ao anel bucal, acrecente-se que é constituido de substancia homojenia que circunda a boca á maneira de ferradura, cujos ramos se acham voltados para os corpusculos bazais e, muitas vezes a elles se apoiam; em cada ramo, acham-se incluidos cerca de 2 a 4 granulos alongados; do lado fechado (ventral) encontra-se na maioria das vezes uma placa maior da mesma substancia (Est. 7, Fig. 48). Da rejião dos flajelos para o lado truncado as granulações aumentam de tamanho (Est. 7, Fig. 46, 49, 51 e 56). Granulações e placa córam-se fortemente pela hematoxilina férrea. Nada podemos adiantar sobre a orijem e natureza dessas formações, porquanto sobre isto não fizemos estudos especiais. Seria interessante verificar si ellas não se relacionam a cromidios ou mitocondrios.

Flajelos. — Os 2 flajelos de igual tamanho nacem do corpusculo bazal duplo (diplozoma), que, como na *Spongomonas*, se acha ligado ao cariozoma por meio de rizoplasto (Est. 7, Fig. 47 e 49). Contrariamente ao que se observa na *Spongomonas* o diplozoma guarda sempre sua pozição na extremidade anterior do lado mais longo do animal, e, tambem, só excecionalmente o rizoplasto dezaparece antes da divizão. Sómente, a porção deste que se prende ao nucleo (Est. 7, Fig. 46) ou, melhor, ao cariozoma (Est. 7, Fig. 49) parece dissolver-se ás vezes, o que, provavelmente, se relaciona com as variações ciclicas.

Nucleo. — O nucleo de *Cyathomonas* é tambem nucleo veziculozo, com grande cariozoma. Contrariamente ao que se observa nas fórmas já descritas, encontram-se tambem constantemente granulações de cromatina na zona de suco nuclear; ao menos, já se nota depozito de tais granulações sobre a membrana nuclear (Est. 7, Fig.

sere Vakuolen, die bei schlechter Fixierung ein derartiges Aussehen erhalten mögen.

Bezüglich des Schlundringes sei hinzugefügt, dass derselbe aus einer homogenen Substanz besteht, die hufeisenförmig den Schlund umzieht, wobei die offenen Schenkel gegen die Basalkörper gerichtet sind und sich häufig ihnen anlegen, und in die jederseits circa zwei bis vier lang gestreckte Körner eingelagert sind; an der geschlossenen Seite (Bauchseite) liegt meist eine grössere Platte derselben Substanz (Taf. 7, Fig. 48). Von der Geisselseite zu der abgestutzten kürzeren Seite hin nehmen die Körner an Grösse zu (Taf. 7, Fig. 46, 49, 51, 56). Körner und Platte färben sich stark mit Eisenhämatoxylin. Ueber die Natur und die Herkunft dieser Gebilde können wir keine Angaben machen, da wir keine besonderen Untersuchungen darüber angestellt haben. Es wäre von Interesse festzustellen, ob sie nicht mit Chromidien oder Mitochondrien etwas zu tun haben.

Geisseln. — Die beiden gleich langen Geisseln entspringen von einem Doppelbasalkorn (Diplosom) und das wie bei Spongomonas durch einen Rhizoplasten mit dem Caryosom des Kernes in Verbindung steht (Taf. 7, Fig. 47, 49). Im Gegensatz zu *Spongomonas* behält das Diplosom immer seine Lage am Vorderende der längeren Seite des Tieres bei und auch der Rhizoplast ist nur ausnahmsweise (vor der Teilung) rückgebildet. Nur der im Kern (Taf. 7, Fig. 46) resp. im Caryosom (Taf. 7, Fig. 49) verlaufende Teil desselben scheint öfters aufgelöst zu werden, was wohl mit den zyklischen Veränderungen zusammenhängt.

Kern. — Auch der Kern von *Cyathomonas* ist ein bläschenförmiger Kern mit grossem Caryosom. Doch sind im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Formen auch in der Kernsaftzone stets Chromatinkörner vorhanden; mindestens findet sich ein Belag von solchen an der Kernmembran (Taf. 7, Fig. 46, 47, etc.). Sehr schön kann man bei dieser Form die Entstehung dieser Chromatinkörner im Aussenkern durch zyklische Abschnürungen vom Caryosom

46, 47). Póde-se observar nitidamente nesse protozoario a formação de tais granulos de cromatina no nucleo exterior, por estrangulamentos ciclicos do cariozoma. Neste processo o cariozoma intumece na periferia, formando-se em torno da zona central compacta uma zona acromatica, que, porem, se acha ainda separada da zona de suco nuclear pela membrana cariozomica primitiva, incluindo granulos de cromatina (Est. 7, Fig. 49 e 50). Esta zona acromatica externa dissolve-se depois e as granulações cromaticas espalham-se no nucleo exterior (Est. 7, Fig. 51). Identico processo se póde repetir com a porção restante do cariozoma. As variações ciclicas que se dão no cariozoma são aqui, morfolojicamente, de nitidez tal, que, iguais, quazi que só foram observadas, até agora, na *Entamoeba tetragena* (Hartmann 1908). Observámos em certos preparados, algumas vezes, nucleos enormemente intumecidos que se nos afiguraram, em tudo, como patolojicos e comparaveis aos aspetos descritos por Richard Hertwig, de dejeneração fiziolojica do nucleo dos protozoarios.

Multiplicação. — No começo da divizão nuclear encontra-se na zona de suco nuclear apenas fino depozito cromatico sobre a membrana exterior que, tambem, mais tarde dezaparece (Est. 7, Fig. 53). Tambem neste cazo o processo de mitoze se passa excluzivamente no cariozoma. Este mostra, como nas variações ciclicas, zona acromatica periferica, mas o limite primitivo do cariozoma encerra apenas vestijios de cromatina. Todo o nucleo e principalmente esta zona periferica do cariozoma se alonga, emquanto a parte central permanece compacta e esferica (Est. 7, Fig. 53). O alongamento da porção periferica continúa até que, no meio, tenha apenas a largura da parte central, formando-se assim figura de fuzo em cujos pólos acuminados aparecem agora os centriolos que antes, não eram diferenciaveis (Est. 7, Fig. 54 a 56). Vimos uma vez em tal fuzo acromatico ainda granulações cromaticas (Est. 7, Fig. 54). Em regra, porem, é elle inteiramente acromati

beobachten. Dabei bläht sich das Caryosom an der Peripherie auf, sodass um einen zentralen kompakten Caryosomteil eine achromatische Zone entsteht, die aber noch von der ursprünglichen Caryosommembran, in die chromatische Körner eingelagert sind, gegen die Kernsaftzone abgegrenzt ist (Taf. 7, Fig. 49, 50). Dann löst sich diese achromatische peripherische Zone und die chromatischen Körner zerstreuen sich im Aussenkern (Taf. 7, Fig. 51). Derselbe Prozess kann sich an dem Caryosomreste dann wiederholen. Die sich am Caryosom abspielenden zyklischen Vorgänge sind hier morphologisch von einer Deutlichkeit, wie sie bisher fast nur bei der *Entamoeba tetragena* (Hartmann 1908) bekannt sind. In einigen Präparaten beobachteten wir auch mehrmals enorm aufgeblähte Kerne, die uns aber ihrem ganzen Aussehen nach pathologisch zu sein schienen, und etwa mit den von Richard Hertwig beschriebenen Vorgängen der physiologischen Degeneration an Protistenkernen gleichzustellen sind.

Fortpflanzung. — Bei Beginn der Kernteilung findet man in der Kernsaftzone nur noch an der Kernmembran einen feinen chromatischen Belag, der aber später auch verschwindet (Taf. 7, Fig. 53). Die ganze Mitose spielt sich also wiederum nur am Caryosom ab. Dieses zeigt, wie bei den zyklischen Veränderungen, eine periphere achromatische Zone, doch enthält die ursprüngliche Caryosomgrenze kaum Spuren von Chromatin. Der ganze Kern, vor allem aber diese periphere Zone des Caryosoms, streckt sich nun in die Länge, während der zentrale Teil kompakt kugelig bleibt (Taf. 7, Fig. 53). Die Längsstreckung des peripheren Teiles setzt sich weiter fort, bis er in der Mitte nur noch die Breite des Zentralteiles aufweist, und es entsteht somit eine Spindelfigur, an der man jetzt auch an den spitzen Polen, die bisher nicht differenzierbaren Centriolen beobachtet (Taf. 7, Fig. 54 bis 56). Einmal fanden wir auch noch chromatische Körner in der sonst achromatischen Spindel (Taf. 7, Fig. 54). In der Regel ist sie aber ganz achromatisch,

co, e nas mais das vezes separado por uma especie de membrana (Est. 7, Fig. 56) da zona do suco nuclear. A parte central do cariozoma achata-se então nos pólos, transformando-se diretamente em placa equatorial (Est. 7, Fig. 55 e 56). Nas figuras ulteriores que nos foi dado examinar viam-se as placas ou cariozomas filhos que já se achavam completamente nos pólos do fuzo (Est. 7, Fig. 57).

Até esse estádio, o fuzo permanecia no eixo lonjitudinal da celula; dá-se agora, nitidamente, rotação de 90°, como mostra a Fig. 59; aprezentam-se, então, as duas placas filhas em fórma de chouriço e se prendem, apenas, por meio de delgadas pontes acromaticas, restos do fuzo primitivo; a membrana nuclear tambem quazi se acha completamente dissolvida. Segue-se, então, a divizão da zona de suco nuclear transversalmente ao longo eixo da celula (Est. 7, Fig 60). Aqui, provavelmente se enquadra a Fig. 58, que apenas vimos uma vez no inicio de nossas observações e que nos parecia á primeira vista reprezentar um fuzo com placas equatoriais e fortes calotas polares (todavia a figura com essa significação não entra absolutamente na serie de estádios por nós ulteriormente observados). Trata-se provavelmente de estádio tardio de anafaze semelhante ao da Fig. 59, onde, porém, só uma placa filha (cariozoma) sofreu a rotação de 90°, emquanto a outra se sobrepõe, transversalmente, á sua pozição primitiva. Esta superpozição dá a impressão erronea de figura de fuzo. Em apoio dessa explicação falam os fatos de que já a membrana nuclear se acha dissolvida, assim como a formação dos novos flajelos, e, a modificação da celula que precede a divizão, está tão adiantada como nos estádios correspondentes da anafaze (Comparem-se as Fig. 59 e 60).

Contrariamente ao que se dá com o *Cercomonas* e o *Spongomonas*, os antigos flajelos permanecem, aqui, em regra durante a divizão (Est. 7, Fig. 54, 56 e 58) e são aproveitados por um dos animais filhos (Est. 7, Fig. 58 a 61). Do como se

doch gegen die Kernsaftzone öfters durch eine Art Membran begrenzt (Taf. 7, Fig. 56). Der zentrale Caryosomteil plattet sich nun an den Polen ab und wird direkt zur Aequatorialplatte (Taf. 7, Fig. 55, 56). Auf dem nächsten Stadium, das uns zu Gesicht kam, waren die Tochterplatten resp. Caryosome schon ganz an den Polen der Spindel (Taf. 7, Fig. 57).

Bis zu diesem Stadium lag die Spindel stets in der Längsaxe der Zelle; es erfolgt nun eine deutliche Drehung um 90° wie Fig. 59 zeigt; hier sind die beiden Tochterplatten wurstförmig und stehen nur noch durch dünne achromatische Brücken, dem Rest der Spindel, mit einander in Verbindung, und auch die Kernmembran ist fast vollständig aufgelöst. Nun folgt quer zur Längsaxe der Zelle die Teilung der Kernsaftzone (Taf. 7, Fig. 60). Hierher gehört wohl auch das Bild der Fig. 58, das wir nur einmal zu Anfang unserer Untersuchung beobachtet haben und zunächst für eine Spindelfigur mit Aequatorialplatte und starkem Polkappen hielten; doch passt das Bild in dieser Deutung absolut nicht in die Reihe der später von uns beobachteten Stadien. Wahrscheinlich handelt es sich um ein spätes Stadium der Anaphase, ähnlich dem der Fig. 59, wobei aber die eine Tochterplatte (Caryosom) die Drehung um 90° allein ausgeführt hat, während die andere noch in ihrer ursprünglichen Lage quer darüberliegt. Diese Ueberlagerung täuscht dann eine Spindelfigur vor. Für diese Deutung spricht auch der Umstand, dass die Kernmembran schon ganz gelöst ist, auch die Anlage der neuen Geisseln und die Umwandlung der Zelle zur Teilung schon soweit vorgeschritten sind, wie auf den entsprechenden Stadien der Anaphase (Vergleiche Fig. 59 u. 60).

Im Gegensatz zu *Cercomonas* und *Spongomonas* bleiben hier bei der Teilung die alten Geisseln in der Regel erhalten (Taf. 7, Fig. 54, 56, 58), und werden von dem einen Tochtertier übernommen (Fig. 58 bis 61). Wie jedoch die Bildung der neuen Geisseln mit ihrem Diplosom und Rhizoplast zustandekommt, konnten wir nicht

formam os novos flajelos com os respetivos diplozoma e rizoplasto, não podemos referir, com segurança. Segundo a Fig. 61 poderia parecer que, como acontece no *Cercomonas* e *Spongomonas*, o aparelho flajelar se formára de novo á custa d'um nucleo. Outros aspetos (Est. 7, Fig. 58 a 60) mostram, porem, que já nas ana- e telofazes se vêm os novos diplozomas e flajelos, sem a prezença do rizoplasto. Deve-se prezumir aqui que o novo diplozoma se orijinou do antigo, por divizão, e que a inserção flajelar tipica se dá, aqui, de modo inteiramente oposto, no sentido de que sái do diplozoma (por divizão) uma fibrila — o rizoplasto — que crece até penetrar no nucleo. O aspeto acima descrito da Fig. 61 (á direita) enquadrar-se-ia melhor nesta interpretação, porque, aí, o diplozoma não se acha ligado diretamente ao cariozoma, mas do rizoplasto a um corpusculo colocado ao lado delle ao passo que no nucleo filho da esquerda da figura se vê este granulo já unido ao cariozoma. Tal processo não deixa de ter analogo, porquanto na espermatojéneze de varios animais, da *Helix pomatia* (von Korff), p. ex., fato analogo é observado.

Prepara-se a divizão da celula, alongando-se ella do lado obtuzo e aprezenta então, aspeto analogo ao do lado mais longo onde se encontram os flajelos (Est. 7, Fig. 58 a 60). Simultaneamente se torna o animal mais largo, estrangulando-se depois ao nivel da parte media do seu comprimento, do modo já descrito e figurado por Buetschli.

Classificação. — Buetschli colocou este flajelado na familia das *Cryptomonadinae*, por cauza de sua estrutura celular e sobretudo da semelhança que existe entre seu aparelho farínjeo e o do *Chilomonas paramaecium*. Senn reconheceu essas relações, mas colocou a fórma em questão entre as *Amphimonadaceæ*, por cauza da alimentação animal e pela auzencia de amido, como produto do metabolismo organico. Ainda que julgando esta razão pouco válida, não obstante, concordamos com a classificação de Senn, porquanto, como mostrásicher ermitteln. Nach Fig. 61 könnte es scheinen, als ob von einem Kern aus in ähnlicher Weise, wie bei *Cercomonas* und *Spongomonas* der Geisselapparat neu gebildet würde. Die anderen Bilder (Fig. 58 bis 60) zeigen aber, dass schon in den Ana- und Telophasen das neue Diplosom und die neuen Geisseln vorhanden sind und zwar ohne Rhizoplast. Hier muss man annehmen, dass das Diplosom durch Teilung des alten entstanden ist und dass die typische Geisselinsertion dann gerade umgekehrt zu Stande kommt, indem von dem Diplosom aus (durch Teilung) eine Fibrille, der Rhizoplast, in den Kern hineinwüchse. Das obenangeführte Bild der Figur 61 (rechts) würde noch besser zu dieser Deutung passen, da hierbei das Diplosom nicht mit dem Caryosom, sondern zunächst mit einem neben ihm gelegenen Korn durch den Rhizoplast in Verbindung steht, während bei dem linken Tochterkern dieses Korn schon mit dem Caryosom vereinigt ist. Ein solcher Vorgang wäre nicht ohne Analogie, da bei der Spermatogenese mancher Tiere, z. B. bei *Helix pomatia* (von Korff) Aehnliches beobachtet wurde.

Die Zellteilung wird dadurch vorbereitet, dass an der abgestutzten Seite sich die Zelle verlängert und eine ähnliche Ausbildung erfährt, wie die ursprünglich längere Geisselseite (Taf. 7, Fig. 58 bis 60). Gleichzeitig wird das Tier noch breiter und schnürt sich dann in der Mitte der Länge nach durch, wie das auch schon Bütschli geschildert und abgebildet hat.

Systematische Stellung. — Bütschli hatte dieses Flagellat zur Familie der *Cryptomonadinen* gestellt in Folge seines Zellbaues, besonders der Aehnlichkeit des Schlundapparates mit dem von *Chilomonas paramaecium*. Senn erkennt zwar diese Beziehungen an, bringt die Form aber, wegen der tierischen Ernährung und des Fehlens von Stärke als Stoffwechselprodukt bei den *Amphimonadaceen* unter. Wenn wir auch diesen Grund von Senn nicht für stichhaltig halten, so stimmen wir seiner Einreihung doch zu, denn

mos, a *Cyathomonas truncata* corresponde completamente, no que respeita á estrutura do nucleo e do aparelho flajelar, ás demais *Protomonadinae*, ao passo que, nesse particular, as *Cryptomonadinae* e especialmente o *Chilomonas* aperecem muito diferentes, como já o demonstraram as pesquizas de v. Prowazek e como nós adiante veremos.

II. BINUCLEATA:

Prowazekia cruzi n. g., n. sp.

Como dissemos, este flajelado apareceu em placa de agar, onde o Dr. Faria cultivára material proveniente de fezes humanas. Nem por isso, trata-se de especie parazitaria, é fórma de vida livre, como o são varias amebas, cultivadas das fezes (V. Naegler, 1909). Isto é provado pelo fato de que o Dr. Berliner, no Instituto de Molestias infetuozas de Berlin, cultivou a mesma fórma, de agua doce. Parece-nos ella identica á especie de *Bodo spec.* figurada por v. Prowazek em trabalho sobre flajelados e de que assim descreveu a notavel inserção do flajelo:

« Ambos os flajelos nacem do mesmo espessamento, em fórma de granulo bazal que se acha colocado terminalmente em uma formação (saco do flajelo) sem estrutura, homojenia, em forma de frasco. O flajelo é independente do nucleo e, assim, alcança maior independencia ».

Como ficará provado no fim deste trabalho torna-se necessario criar novo genero bazeado nesse modo de inserção flajelar e que, em homenajem a nosso amigo von Prowazek, que descobriu esse fato, denominaremos *Prowazekia.*

Forma. — O flajelado é ovalar ou piriforme; ás vezes, as duas extremidades são adelgaçadas. As dimensões são de cerca de 8—12 μ de comprimento e 4 a 6 μ de largura. A superficie é limitada por periplasto manifestamente forte, e por isso a fórma é relativamente fixa e inalteravel.

Plasma. — O plasma é de estrutura alveolar e atravessado de grandes vacuolos que, em parte, são vacuolos nutritivos mos-

Cyathomonas truncata stimmt, wie wir gezeigt haben, im Bau vom Kern- und Geisselapparat vollkommen mit den übrigen *Protomonadinen* überein, während die *Cryptomonadinen* speziell *Chilomonas* sich in dieser Beziehung sehr verschieden erweist, wie schon die Untersuchungen von v. Prowazek gezeigt haben und wir weiter unten eingehender sehen werden.

II. BINUCLEATA:

Prowazekia cruzi n. g., n. sp.

Das Flagellat trat, wie schon erwähnt, auf einer Agar-Platte auf, die Herr Dr. Faria mit Material von menschlichen Fäces beschickt hatte. Trotzdem handelt es sich nicht um eine parasitische, sondern wie bei den verschiedenen aus Fäces gezüchteten Amoeben, um eine freilebende Form (vergl. Naegler 1909). Mit Sicherheit geht es daraus hervor, dass Herr Dr. Berliner im Institut für Infektionskrankheiten in Berlin die gleiche Form aus Süsswasser gezüchtet hat. Sie scheint uns identisch mit dem *Bodo* spec, den v. Prowazek in seiner Flagellatenarbeit abgebildet und seine merkwürdige Geisselinsertion beschrieben hat: « Beide Geisseln entspringen von einer gemeinsamen basalkornartigen Verdichtung, die terminal einem anscheinend strukturlosen homogenen phiolenartigen Gebilde (Geisselsäckchen) ansitzt. Die Geissel ist vom Kerne unabhängig und gewinnt so eine grössere Selbständigkeit ». Wie zum Schlusse näher begründet werden soll, ist auf Grund dieser Geisselinsertion die Aufstellung einer neuen Gattung notwendig, die wir zu Ehren unseres Freundes von Prowazek, des Entdeckers dieser Verhältnisse, « *Prowazekia* » nennen wollen.

Gestalt. — Das Flagellat hat eine ovale oder birnförmige Gestalt, zuweilen sind auch beide Enden verjüngt. Seine Grösse beträgt circa 8—12 μ Länge und 5—6 μ Breite. Die Oberfläche ist von einem offenbar festen Periplast begrenzt, denn die Form ist ziemlich starr und unveränderlich.

trando, varios restos alimentares. Não se verificou o modo de apreensão dos alimentos, e tão pouco a existencia de vacuolos contrateis.

Flajelos. — Ambos os flajelos têm a dispozição tipica carateristica das « *Bodonaceæ* ; o mais curto é dirijido para diante e o mais longo para traz funcionando como flajelo caudal (*Schleppgeissel*).

Elles nacem nas cercanias da extremidade anterior, ás vezes um pouco lateralmente, de 2 corpusculos bazais (diplozoma) que, na maioria das vezes, se acham tão juntos que parecem constituir um só elemento (Est. 8, Fig. 62). Poude-se, porém, verificar nitidamente que se tratavam realmente de duas granulações bem distintas (Est. 8, Fig. 63 e 64). O diplozoma parece aderente á extremidade do blefaroplasto dos autores (*Geisselsäckchen* de v. Prowazek) (Fig. 66). Nos preparados bem diferenciados, vê-se que elle se acha ligado áquelle por meio de curta fibrila (rizoplasto) (Est. 8, Fig. 62 e 69 á esquerda) ou, então, existe pequeno espaço, devido á reabsorção do rizoplasto (Est. 8, Fig. 68). Em ambos os cazos acha-se elle colocado no limite da zona clara que envolve o blefaroplasto ou antes o cariozoma do nucleo flajelar e que corresponde á sua zona de suco nuclear (Est. 8, Fig. 62—64, 66—69).

Assim, pode-se dizer que faz parte do aparelho locomotor de flajelos um nucleo completo (nucleo flajelar, blefaroplasto). Essa estrutura complicada do aparelho locomotor só é patente em um dos outros grupos de flajelados parazitos, os tripanozômos e seus afins.

Nucleo. — A *Prowazekia* se distingue de todos os flajelados de vida livre, em que possue ella dous nucleos de estrutura diferente, um dos quais corresponde ao nucleo das protomonadinas e que denominaremos *nucleo principal* e um segundo, homologo ao denominado blefaroplasto dos *binucleados* (Hartmann 1907) e mais corretamente dezignado com o nome de *cinetonucleo*, de acordo com Minchin e Woodcock.

O nucleo principal é, como nas protozoarios, constituido de cromatina e substancia fundamental. Nos preparados bem fixados e corados, a cromatina se apresenta em grumos irregulares, ás vezes em fios, que se acham dispostos em uma zona periferica, deixando livre uma zona central clara, que corresponde á substancia fundamental. Esta zona central clara é mais ou menos extensa, conforme a quantidade de cromatina que existe no nucleo. Em alguns exemplares, a cromatina se acha disposta em uma camada muito delgada, em outros, em uma camada mais espessa. Em alguns exemplares, a cromatina se acha disposta em uma camada muito delgada, em outros, em uma camada mais espessa. Em alguns exemplares, a cromatina se acha disposta em uma camada muito delgada, em outros, em uma camada mais espessa. Em alguns exemplares, a cromatina se acha disposta em uma camada muito delgada, em outros, em uma camada mais espessa.

Plasma. — Das Plasma ist wabig gebaut und von grossen Vakuolen durchsetzt, die teilweise Nahrungsvakuolen darstellen und in denen allerlei Nahrungsreste sich finden. Die Art der Nahrungsaufnahme wurde nicht beobachtet, es wurden auch keine contractilen Vacuolen festgestellt.

Geisseln. — Die beiden Geisseln haben die für die *Bodonaceen* typische Form und Anordnung ; die kürzere ist nach vorn gerichtet, die längere als Schleppgeissel nach hinten. Sie entspringen in der Nähe des Vorderendes, vielfach etwas seitlich von zwei Basalkörnern, (Diplosom), die aber meist so dicht zusammenliegen, dass sie als ein einziges erscheinen (Taf. 8, Fig. 62). Doch konnte man öfters deutlich beobachten, dass es sich um zwei ganz distinkte Körner handelt (Taf. 8, Fig. 63 und 64). Das Diplosom scheint dem sog. Blepharoplasten (Geisselsäckchen von v. Prowazek) terminal anzusitzen (Fig. 66). In gut differenzierten Präparaten sieht man jedoch, dass es durch eine kurze Fibrille (Rhizoplast) mit demselben verbunden ist (Taf. 8, Fig. 62, 69 links), oder aber es ist ein kleiner Zwischenraum vorhanden, in welch letzterem Falle der Rhizoplast eingeschmolzen ist (Fig. 68). In beiden Fällen liegt es an der Grenze eines hellen Hofes, der sich um den Blepharoplasten, richtiger Caryosom des Geisselkernes, zieht und der Kernsaftzone desselben entspricht (Fig. 62—64, 66—69). Somit gehört gewissermassen ein ganzer Kern (Geisselkern, Blepharoplast) mit zu dem Lokomotionsapparat des Flagellaten. Dieser komplizierte Bau des Lokomotionsapparates ist sonst nur bei einer Gruppe von parasitischen Flagellaten, den Trypanosomen und Verwandten verwirklicht.

Kerne : — Die *Prowazekia* zeichnet sich also von allen freilebenden Flagellaten dadurch aus, dass sie zwei verschieden differenzierte Kerne besitzt, einen, der dem Kern der Protomonadinen entspricht, welchen wir *Hauptkern* nennen wollen und einen zweiten, der dem sogenannten *Blepharoplasten* der *Binucleaten* (Hartmann

monadinas primitivas e tambem nos tripanozômos, veziculozo, com grande cariozoma (Est. 8, Fig. 62 a 65). A membrana nuclear nem sempre é muito nitida, mas existe. Na zona de suco nuclear, encontra-se pouca cromatina, o que acontece tambem nos tripanozômos, como o demonstraram as recentes pesquizas de Moore e Breinl, Rosenbusch e Chagas. O cariozoma é muito compacto, pelo que, habitualmente, não se pode dicernir o centriolo nelle incluido. Somente, logo apoz a divizão, quando elle está ainda bastante intumecido é que poude ser apercebido (Est. 8, Fig. 76).

Que na realidade aqui o *nucleo flajelar* ou o *cinetonucleo* é um nucleo completo, sobresae já em que, quando os flajelos e corpusculo bazal se acham mal córados (p. ex. nos cistos) a diferenciação delle com o nucleo principal é apenas possivel, (Est. 8, Fig. 62 e 78). A diferença principal é que sua zona de suco nuclear as mais das vezes é muito estreita, ao passo, que o cariozoma, que até agora nos tripanôzomos tinha sido considerado unicamente, como blefaroplasto (vide sobre este assunto Rosenbusch e Chagas) dezenvolve-se enormemente e não raro é maior que o nucleo principal. E' raro que aprezente fórma esferica, habitualmente é alongado, oval, (Est. 8, Fig. 63), piriforme ou em fórma de frasco (*phiolenartig* de v. Prowazek) (Fig. 66). Assim a estrutura do nucleo flajelar é identica á descrita nos tripanozômos por Chagas e Rosenbusch. Tamanho e fórma do cariozoma especialmente lembram de maneira surpreendente o nucleo flajelar dos tripanoplasmas (Laveran e Mesnil, Keysselitz, Minchin).

Multiplicação. — Por ocazião da divizão binaria, ora o nucleo flajelar se divide antes do nucleo principal, ora é o inverso que se observa. A divizão do nucleo principal se efetúa inteiramente no cariozoma, e assim as figuras de divizão ficam aqui envolvidas pela zona de suco nuclear inteiramente sem estrutura. O estado mais primordial que nos foi dado observar (Est. 8, Fig. 66), muito se assemelha ao da *Cyatho-*

1907) homolog ist und der am besten mit Minchin und Woodcock als *Kinetonucleus* bezeichnet wird.

Der *Hauptkern* ist, wie bei einfachen Protomonadinen und auch bei Trypanosomen, bläschenförmig mit grossem Caryosom (Fig. 62 bis 65). Die Kernmembran ist manchmal nicht sehr deutlich, aber vorhanden. In der Kernsaftzone findet sich wenig Chromatin, was nach den neuen Untersuchungen von Moore und Breinl, Rosenbusch und Chagas ja auch für die Trypanosomen zutrifft. Das Caryosom ist sehr kompakt, weswegen auch das in ihm eingeschlossene Centriol gewöhnlich nicht zu sehen ist. Nur kurz nach der Teilung, wo es ziemlich aufgebläht ist, konnte letzteres wahrgenommen werden (Fig. 76).

Dass der *Geissel*kern oder *Kinetonucleus* hier in der Tat ein vollständiger Kern ist, leuchtet schon daraus ein, dass wenn Geisseln und Basalkörner schlecht gefärbt sind (z. B. in Cysten), er kaum vom Hauptkerne zu unterscheiden ist (Taf. 8, Fig. 62 und 78). Der Hauptunterschied ist der, dass seine Kernsaftzone meist sehr schmal, sein Caryosom dagegen, das bisher bei Trypanosomen meist allein als Blepharoplast bezeichnet wurde, (vergl. hierüber Rosenbusch und Chagas) ausserordentlich stark entwickelt und oft grösser als das des Hauptkernes ist. Selten weist es kugelige Gestalt auf, meist ist es gestreckt, oval (Fig. 63) oder birnförmig resp. « phiolenartig » (Fig. 66) (von Prowazek). Der Bau des Geisselkernes ist mithin der gleiche, wie ihn Rosenbusch und Chagas bei Trypanosomen beschrieben haben. Die Grösse und Form seines Caryosoms erinnert speziell ganz auffallend an den Geisselkern von *Trypanoplasma* (Laveran u. Mesnil, Keysselitz, Minchin).

Fortpflanzung. — Bei der Zweiteilung geht teils die Teilung des Geisselkernes der des Hauptkernes voran, teils umgekehrt. Die Teilung des Hauptkernes spielt sich ganz am Caryosom ab und die Kernteilungsfiguren sind hierbei von der ganz strukturlosen Kernsaftzone umgeben.

monas truncata: vê-se um largo fuzo acromatico em fórma de barril em cada pólo do qual se notam duas granulações unidas por filamento que, segundo nosso ponto de vista, não são mais que os centriolos em divizão.

Ao nivel do equador existe larga massa transversal de cromatina, a placa equatorial. Em estádios mais adiantados o fuzo se alonga, deixando os centriolos de ser viziveis (Est. 8, Fig. 67). E' notavel que nesse estádio a placa equatorial é constituida de duas grandes esféras de cromatina (Est. 8, Fig. 67), que, como no *Ascaris* podem ser consideradas como cromozomios coletivos (*Sammelchromosomen*) ou talvez, como indicio de estádio gonomeral (Haecker) i. é, como elementos nucleares diversos de orijem,ora paterna,ora materna. Cada um destes dois elementos de cromatina da placa equatorial se torna em seguida mais largo e toma finalmente a fórma de biscoito (Est. 8, Fig. 68), separando-se depois por estrangulamento (Est. 8, Fig. 69) de modo que se formam duas placas filhas nas quais os elementos de cromatina costumam fundir-se outra vez. Segue-se, então, rapidamente o estrangulamento em halteres do fuzo (Est. 8, Fig. 70 e 71). Os dous nucleos filhos, novos e em via de reconstituição, permanecem por longo tempo constituidos de dous elementos separados: uma massa geralmente acromatica orijinaria do fuzo e outra porção mais cromatica que provem das placas filhas (Est. 8, Fig. 71). Nestas ultimas na Fig. 77 os dous elementos de cromatina ainda se acham separados. A parte acromatica, já nos estádios anteriores (fórma em halteres. Fig. 70) póde encerrar substancia cromatica, habitualmente, porém, isto se dá um pouco mais tarde, pouco antes que elle creça circundando o outro (Est. 8, Fig. 74 e 75) e com elle se una com o que se fórma de novo o cariozoma normal (Est. 8, Fig. 76).

Além destes, observam-se dous outros aspetos que indicam segunda modalidade mais abreviada de divizão nuclear. O cariozoma alonga-se lijeiramente de modo que o nucleo exterior conserva ainda a fórma es-

Das früheste Stadium (Fig. 66), das wir fanden, gleicht sehr dem von *Cyathomonas truncata*: wir sehen eine breite, tonnenförmige, achromatische Spindel, an deren Polen je zwei durch einen Faden verbundene Körner, unserer Meinung nach die im Teilungszustande befindlichen Centriolen, sich befinden. Am Aequator liegt quer eine breite Chromatinmasse, die Aequatorialplatte. Bei den späteren Stadien streckt sich die Spindel in die Länge, wobei die Centriolen nicht mehr gesehen wurden (Taf. 8, Fig. 67). Auffallend ist, dass in diesem Stadium die Aequatorialplatte aus zwei grossen Chromatinkugeln besteht (Taf. 8, Fig. 67), die, wie bei *Ascaris*, als Sammelchromosomen betrachtet werden können, vielleicht aber auch als Zeichen eines gonomeren Zustandes (Haecker), d. h. als gesonderte, väterliche und mütterliche Kernbestandteile anzusprechen sind. Jedes dieser beiden Chromatinelemente der Aequatorialplatte wird nun breiter, schliesslich biscuitförmig (Taf. 8, Fig. 68) und schnürt sich dann durch (Taf. 8, Fig. 69), sodass zwei Tochterplatten entstehen, bei denen die Chromatinelemente meist wieder verschmelzen. Nun folgt sehr rasch die hantelförmige Durchschnürung der Spindel (Taf. 8, Fig. 70 u. 71). Die in Rekonstruktion begriffenen neuen Tochterkerne bestehen lange Zeit noch aus zwei getrennten Elementen, einer meist achromatischen Kugel, die aus der Spindel hevorgegangen ist und einem mehr chromatischen Teil, der von der Tochterplatte stammt (Taf. 8, Fig. 71); in letzterem sind in Fig. 77 auch noch die zwei Chromatinelemente getrennt. Der achromatische Teil kann schon in früheren Stadien (Hantelstadien Fig. 70) chromatische Substanz enthalten, gewöhnlich aber tritt dies erst später ein kurz bevor er den anderen umwächst (Fig. 74 u. 75), und sich mit ihm vereinigt, wodurch nun dann wieder das normale Caryosom entsteht (Fig. 76).

Ausserdem wurden noch zwei Bilder beobachtet, die auf einen zweiten, abgekürzten Modus der Kernteilung hinweisen; dabei streckt sich das Caryosom nur wenig

ferica e nelle se processa então uma diferenciação em parte cromatica e acromatica. A primeira destas divide-se rapidamente (Est. 8, Fig. 72) e as porções rezultantes dessa divizão dirijem-se rapidamente para os pólos, ficando apenas ligadas por delgada fibrila, a centrodesmoze (Est. 8, Fig. 73); a porção acromatica, ao contrario do processo habitual permanece entre as duas massas de cromatina. Não dispomos de observação alguma que nos autorize a decidir se esse segundo modo de divizão nuclear é relacionado a estádios especiais de dezenvolvimento. Como tambem nas amebas se observam muitas vezes dous modos diversos de divizão nuclear [Vahlkampf (1905), Naegler (1906), Aragão (1909)], do qual um é evidentemente modalidade mais simples e mais rapida do outro, tambem neste cazo será talvez essa a unica explicação.

Pouco podemos dizer sobre a divizão do nucleo flajelar, visto a rapidez com que se processa. Poucas figuras, que a ella se relacionariam, cairam sob nossa observação. Numa dellas, que mais vezes se nos deparou, o cariozoma aprezenta-se fuziforme, mais palido no interior e de coloração mais escura nas bórdas; a estreita zona de suco nuclear só é vizivel do lado virado para a celula. O antigo corpusculo bazal adere a um dos pólos e no outro percebe-se um fino prolongamento semelhante a um granulo (centriolo?) (Est. 8, Fig. 76). No cazo figurado provavelmente a divizão do nucleo principal por acazo já está terminada. Vimos, ao contrario, apenas uma vez o aspeto reprezentado pela figura 65, onde, no lugar de nucleo flajelar se vê um pequeno fuzo com placa equatorial. Tal aspeto lembra as figuras de divizão que Rosenbusch deu do nucleo blefaroplastico dos tripanozômos. Como mostra a figura 64 a divizão do cariozoma do nucleo flajelar se póde efetuar muito rapidamente (abreviada, aparentemente amitozica). Apoz o estrangulamento permanece muitas vezes por mais tempo a centrodesmoze, assim é que á Fig. 71 se vê resto da mesma prezo ao novo nucleo flajelar da esquerda.

in die Länge — auch der Aussenkern behält seine kugelige Form — und es tritt an ihm eine Differenzierung in eine chromatische und achromatische Partie auf. Erstere teilt sich rasch (Taf. 8, Fig. 72), wobei die Teilhäften sofort an die Pole rücken und nur noch durch eine feine Fibrille, Centrodesmose, verbunden sind (Taf. 8, Fig. 73), während der achromatische Teil im Gegensatz zu dem gewöhnlichen Modus zwischen den Chromatinkugeln liegt. Es stehen uns keine Beobachtungen zur Verfügung, die entscheiden lassen, ob dieser zweite Modus mit besonderen Entwicklungszuständen in Zusammenhang steht. Da auch bei Amoeben öfters zwei verschiedene Kernteilungsmodi beobachtet wurden [Vahlkampf (1905), Naegler (1909), Aragão (1909)], von denen der eine offenbar nur als eine einfachere, rascher verlaufende Variation des andern zu betrachten ist, wird wohl auch hier das der einzige Grund sein.

Ueber die Teilung des Geisselkernes können wir weniger berichten, da sie sich offenbar sehr rasch vollzieht. Es kamen uns nur wenige Bilder zu Gesicht, die sich darauf beziehen lassen. Bei dem einen, das häufiger beobachtet wurde, hat das Caryosom eine spindelförmige Gestalt und ist im Innern blasser, am Rande dunkler gefärbt; die schmale Kernsaftzone ist nur an der, der Zelle zugekehrten, Seite deutlich. An dem einen Pole sitzt das alte Basalkorn an, und am anderen sieht man einen leichten feinen körnchenartigen Fortsatz (Centriol?) (Taf. 8, Fig. 76). In dem abgebildeten Falle ist zufällig die Teilung des Hauptkernes schon beendet. Nur einmal haben wir dagegen das in Fig. 65 dargesttelte Bild beobachtet, wo an Stelle des Geisselkernes eine kleine Spindel mit Aequatorialplatte sich findet. Das Bild erinnert an die Teilungsfiguren, die Rosenbusch vom Blepharoplastkern von Trypanosomen gegeben hat. Wie Figur 64 zeigt, kann auch beim Geisselkern die Caryosomteilung sehr rasch (abgekürzt, scheinbar amitotisch) sich vollziehen. Bei der Durchschnürung bleibt häufig die Centrodesmose länger erhalten;

Os antigos flajelos permanecem em relação a uma das metades filhas do cinetonucleo e serão conservados por um dos animais filhos, ao passo que do outro flajelo formar-se-ão dous novos; nessa ocazião, por divizão heteropolar do seu cariozoma formar-se-á novo corpusculo bazal (Est. 8, Fig. 69, á esquerda).

A celula divide-se por divizão lonjitudinal tipica, em consequencia da qual é ella estrangulada de diante para traz (Est. 8, Fig. 77).

Consignemos ainda aqui a existencia de figuras que vimos em alguns preparados e que se relacionam talvez á divizão multipla (esquizogonia). Tratam-se de celulas de *Prowazekia* que encerram grande numero de figuras semelhantes a nucleos (Est. 8, Fig. 82). Como não tenhamos podido observar o dezenvolvimento dessa fórma, esta explicação não é certa; é mesmo possivel que se trate de incluzões parazitarias como já tem sido bastas vezes observado nas amebas (Dangeard, Doflein, Naegler). Em favor da primeira hipoteze fala o fato de que muita vez encontrámos nas culturas individuos extremamente pequenos que bem se poderiam ter orijinado de tal esquizogonia.

Cistos. — Apoz algum tempo o flajelado encista-se nas placas de agar. Estes cistos, como nos *Cercomonas*, são simples cistos de rezistencia, e, assim mesmo, em regra, os flajelos são conservados. Os animais, em parte com a fórma oval, em parte com a fórma esferica somente se cercam de fina membrana.

Nos preparados bem córados vê-se claramente no interior dos cistos os flajelos (Est. 8, Fig. 78 a 81). Encontrámos por varias vezes cistos com dous nucleos principais e dous nucleos flajelares o que provavelmente corresponde a imediata divizão lonjitudinal, logo apoz o encistamento (Est. 8, Fig. 80). Este processo evidentemente nada tem que ver com a autogamia. No estado vivo, sobretudo nas fórmas alongadas de cistos, póde-se observar muito bem o esso sieht man in Fig 71 noch einen Rest derselben in Verbindung mit dem linken neuen Geisselkern.

Die alten Geisseln bleiben mit der einen Tochterhälfte des Kinetonucleus in Verbindung und werden von dem einen Tochtertier übernommen, während von dem anderen aus ein neues Paar gebildet wird; hierbei entsteht zunächst durch heteropole Teilung seines Caryosoms ein neues Basalkorn (Fig. 69 links).

Die Zellteilung ist eine typische Längsteilung, wobei die Zelle von vorn nach hinten durchschnürt wird (Taf. 8, Fig. 77). An dieser Stelle sei noch auf Bilder hingewiesen, die wir in einigen Präparaten antrafen und die eventuell mit einer multiplen Teilung (Schizogonie) in Beziehung stehen. Es handelt sich um Zellen von *Prowazekia*, die eine grössere Anzahl kernartiger Gebilde enthalten (Fig. 82). Da wir die Entwicklung dieser Formen nicht beobachtet haben, scheint uns die Deutung nicht ganz sicher und es wäre auch möglich, dass es sich um parasitäre Einschlüsse handelt, wie sie ja speziell bei Amoeben häufig beobachtet werden (Dangeard, Doflein, Naegler). Für die erste Deutung lässt sich einführen, dass wir öfters in den Kulturen äusserst kleine Individuen antrafen, die sehr wohl aus einer derartigen Schizogonie hervorgegangen sein können.

Cysten. — Nach einiger Zeit encystiert sich das Flagellat auf der Agarplatte. Die Cysten sind wie bei *Cercomonas* einfache Dauercysten, doch bleiben dabei die Geisseln in der Regel erhalten. Die Tiere umgeben sich einfach, teils im ovalen, teils im abgekugelten Zustande, mit einer feinen Membran. Im Innern der Cysten sieht man in gut gefärbten Präparaten deutlich die Geisseln (Fig. 78-81). Wir trafen mehrmals Cysten mit zwei Haupt- und zwei Geisselkernen, was wohl mit einer sofortigen Längsteilung nach der Encystierung zusammen hängt (Taf. 8, Fig. 80). Mit Autogamie hat der Vorgang offenbar nichts zu tun. Sehr schön kann man im Leben besonders bei den lang gestreckten Cysten das Ausschlüpfen des Flagellaten

capamento do flajelado. Elle gira ativamente no interior do cisto até que se forme rutura numa das extremidades pela qual se escapa. A membrana cistica permanece sob a forma de envólucro muito delgado dificilmente vizivel.

Classificação. — Da descrição acima dada do nucleo e do aparelho flajelar sobresae nitidamente que nosso flajelado se diferencia de modo sorprendente das demais protomonadinas. No começo, v. Prowazek o considerou como especie de *Bodo*, mas nessa epoca não era conhecida a citolojia das *Bodonaceae*. Mais tarde, o proprio v. Prowazek descreveu para o parazito *Bodo lacertae* inserção flajelar que corresponde á das outras protomonadinas. Podemos dizer o mesmo para um *Bodo* de vida livre que reprezentamos na figura junto:

beobachten. Es rotiert lebhaft innerhalb desselben bis sich an einem Ende ein Riss bildet, durch den es entschlüpft. Die Cystenmembran bleibt als eine sehr feine, schwer sichtbare Hülle zurück.

Systematische Stellung. — Aus der oben gegebenen Beschreibung des Kern- und Geisselapparates geht ohne Weiteres hervor, dass unser Flagellat sich von den übrigen Protomonadinen auffallend unterscheidet. V. Prowazek hat es zwar anfangs für eine *Bodo*-Art gehalten, doch war damals von keiner *Bodonacee* die Cytologie bekannt. Später hat aber v. Prowazek selbst für den parasitischen *Bodo lacertae* eine Geisselinsertion beschrieben, die mit der der übrigen Protomonadinen übereinstimmt. Das gleiche können wir für eine freilebende *Bodo*-Art angeben, von der wir in der Textfigur eine Abbildung geben:

Encontra-se aqui apenas um nucleo, cujo cariozoma se acha ligado por meio de rizoplasto com as granulações bazais das quais nacem os flajelos. Como rezulta de tudo isto, nossa forma não póde ser incluida no genero *Bodo* e necessaria se torna a creação de novo genero a que, como foi dito no começo, denominámos *Prowazekia*.

O genero *Prowazekia* mostra, no que respeita ao nucleo e flajelos admiraveis concordancias com os tripanozômidas, especialmente com o genero *Trypanoplasma*, o que já tinha sido assinalado por v. Prowazek.

Esta ultima especie só se distingue daquella em que no tripanoplasma o flajelo caudal está unido ao corpo, formando membrana ondulante. Já anteriormente Hartmann (1907), bazeando-se no complicado aparelho locomotor dos tripanozômidas e seus afins os separára das demais protomonadinas, levando-os, assim como os

Hier findet sich nur ein Kern, dessem Carvosom durch den Rhizoplasten mit den Basalkörnern, von denen die Geisseln entspringen, verbunden ist. Wie hieraus ersichtlich, kann daher unsere Form nicht zur Gattung *Bodo* gestellt werden und es ist die Errichtung einer neuen Gattung nötig, die wir, wie eingangs erwähnt, *Prowazekia* nennen.

Die Gattung *Prowazekia* zeigt nun in den Kern- und Geisselverhältnissen eine auffallende Uebereinstimmung mit den Trypanosomen, speziell mit der Gattung *Trypanoplasma*, worauf v. Prowazek schon hingewiesen hat. Letztere unterscheidet sich von ihr nur dadurch, dass die Schleppgeissel durch Verklebung mit dem Körper zur undulierenden Membran geworden ist. Die Trypanosomiden und ihre Verwandten hat nun Hartmann (1907) schon früher auf Grund ihres komplizierten lokomotorischen Apparates von den Protomonadinen ge-

demais protozoarios do sangue denominados hemosporidios para nova ordem de flajelados, que denominou *Binucleata*, por cauza da sua particularidade mais distinta, a duplicidade nuclear reprezentada pelo nucleo principal e pelo flajelar. Pelo que se acaba de ver o genero *Prowazekia* deve ser incluido entre os *Binucleata*, constituindo no genero a unica fórma não parazitaria. Segundo toda a probabilidade, do genero *Prowazekia* provem o genero *Trypanoplasma*, que não é só parazito de sangue, mas tambem do intestino. Assim, pois, colocamos o genero *Prowazekia*, ao lado do *Trypanoplasma*, na familia dos *Trypanoplasmidae*.

III. CHROMOMONADINA:

Chilomonas paramaecium Ehrbg.

De todos os flajelados a ordem das *Chromomonadina* Blochmann tem sido a menos estudada no ponto de vista citolojico. Sómente o *Chilomonas paramaecium*, pertencente á sub-ordem das *Cryptomonadina* foi estudada, no que respeita á citolojia, por v. Prowazek (1903) e por Awerinzew (1906). Estes dous autores, porém, não são concordes nas descrições que fazem. Como se aprezentaram em nossas culturas numerozos flajelados destes, aproveitámos a oportunidade para conferir os rezultados daquelles autores. Referir-nos-emos estritamente ás questões que se relacionam ao nucleo e á inserção flajelar.

Segundo v. Prowazek o nucleo é separado do plasma por membrana; ao centro vê-se o cariozoma cercado de nucleo exterior fortemente dezenvolvido que deixa ver sempre certo numero de granulos de cromatina.

Awerinzew, ao contrario, nega a existencia de membrana nuclear e só considera como nucleo o cariozoma cercado duma zona clara; o nucleo exterior é por elle considerado zona cromidial perinuclear por isso, que, segundo elle, não é separado por membrana, sendo os contornos irregularmente estrelados. Pudemos confirmar completamente as observações e interpretações de v. Prowazek. Junte-se ainda que descotrennt und zusammen mit den übrigen Blutprotozoen, den sog. Haemosporidien, zu einer neuen Flagellatenordnung erhoben, der er den Namen *Binucleata* gab, infolge ihres hervorstechendsten Merkmales, der Doppelkernigkeit (Hauptkern und Geisselkern). Wie ersichtlich muss die Gattung *Prowazekia* ebenfalls bei den Binucleaten eingereiht wurden, als die, bisher einzige, hierher gehörige, freilebende Form. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist von ihr direkt die Gattung *Trypanoplasma*, die ja nicht nur als Blutparasit, sondern auch im Darme vorkommt, abzuleiten. Wir stellen daher die Gattung *Prowazekia* zu der Gattung *Trypanoplasma* in der Familie der *Trypanoplasmiden*.

III. CHROMOMONADINA:

Chilomonas paramaecium Ehrbg.

Die Ordnung der *Chromomonadina* Blochmann ist am wenigsten von allen Flagellaten cytologisch erforscht. Nur die zur Unterordnung der Cryptomonadina gehörige *Chilomonas paramaecium* ist von v. Prowazek (1903) und Awerinzew (1906) cytologisch untersucht. Beide Autoren weichen jedoch in ihrer Beschreibung wesentlich von einander ab. Da in unseren Kulturen dieses Flagellat in grosser Menge vorkam, so haben wir die Gelegenheit benutzt, die Angaben der beiden Autoren nachzuuntersuchen. Wir werden dabei nur auf die strittigen Punkte, den Kern und die Geisselinsertion, näher eingehen.

Nach v. Prowazek ist der Kern durch eine Membran gegen das Plasma abgegrenzt; im Centrum findet sich ein Caryosom und darum ein stark entwickelter Ausserkern, der stets eine Anzahl Chromatinkörner aufweist. Awerinzew dagegen bestreitet das Vorhandensein der Kernmembran und fasst nur das von einem hellen Hof umgebene Caryosom als Kern auf, den Aussenkern aber als eine perinucleäre Chromidialzone, da sie nach ihm gegen das Plasma nicht durch eine Membran abgegrenzt, sondern unregelmässig sternförmig in ihrem Umrisse verlaufe. Wir können die Angaben und Deu-

brimos um centriolo no cariozoma (Est. 9, Fig. 90).

Como já v. Prowazek (1907) prezumira na resposta que deu a Awerinzew o aspeto diverso do nucleo (arredondado com membrana nuclear, ou com zona cromidial de aspeto estrelado) deve no ultimo cazo ser atribuida a insuficiencias de fixação, do que varias vezes nos pudemos convencer em nossos preparados. No que respeita á divizão nuclear nada mais conseguimos verificar além do que já havia sido visto por v. Prowazek e Awerinzew (Est. 9, Fig. 91). Parece que ella se processa rapidamente. E, tanto quanto se póde ajuizar dos poucos estádios observados, essa divizão lembra a que se dá no nucleo das euglenoideas e no dos dinoflajelados.

Ainda ha discordancia entre v. Prowazek e Awerinzew no que respeita á inserção dos flajelos. Segundo v. Prowazek os dous flajelos nacem dum diplozoma, do qual uma fibrila (rizoplasto) se dirije, passando ao lado do nucleo, para o corpusculo bazal situado á extremidade posterior. Para Awerinzew esta fibrila termina no nucleo (cariozoma). Isto provem de que nem sempre o corpusculo bazal se acha na extremidade posterior das celulas, mas algumas vezes ao nivel do nucleo (Est. 9, Fig. 89), e que, sendo visto do outro lado, dá a impressão de sair do cariozoma. Ao contrario, nada vimos referente á divizão do rizoplasto em 2 hastes, das quais uma iria ao nucleo e outra ao corpusculo bazal na extremidade posterior da celula o que foi citado na replica de v. Prowazek (1907).

V. EUGLENOIDEA:

Peranema trichophorum (Ehrbg.).

Depois dos trabalhos de Blochmann e Keuten, Dangeard, Steuer, v. Prowazek as euglenoideas podem ser consideradas como a ordem de flajelados mais bem estudada no ponto de vista citolojico, e sua delimitação no sistema já antes destes estudos estava bem estabelecida, devido á sua organização carateristica (Klebs). Assim mesmo aproveitámos com bastante

tungen v. Prowazeks vollauf bestätigen. Hinzugefügt sei noch der Befund eines Centriols im Caryosom (Fig. 90). Wie v. Prowazek (1907) schon in seiner Erwiderung an Awerinzew vermutet hat, ist das verschiedene Aussehen des Kerns (kuglig mit Kernmembran oder scheinbar sternförmige Chromidialzone) auf im letzteren Falle ungenügende Fixierung zurückzuführen, wie wir uns an unseren Präparaten öfters überzeugen konnten. Von der Kernteilung haben wir auch mehr gesehen als v. Prowazek und Awerinzew (Fig. 91). Sie scheint sehr rasch vor sich zu gehen. Soweit die wenigen Stadien ein Urteil zulassen, erinnert sie an die der Euglenoideen, sowie die der Dinoflagellaten.

Auch bezüglich der Geisselinsertion bestehen Differenzen zwischen v. Prowazek und Awerinzew. Nach v. Prowazek entspringen die beiden Geisseln von einem Diplosom, von dem aus eine Fibrille (Rhizoplast) an dem Kerne vorbei zu einem im Hinterende gelegenen Basalkorn verläuft. Awerinzew gibt jedoch an, dass diese Fibrille in dem Kern (Caryosom) endigt. Dies kommt daher, dass das Basalkorn häufig nicht im Hinterende der Zelle, sondern in der Höhe des Kernes liegt (Fig. 89), wodurch bei Ansicht von der anderen Seite der Eindruck erweckt wird, als ob sie vom Caryosom ausginge. Von einer Verzweigung des Rhizoplasten, wobei der eine Ast zum Kern, der andere zum Basalkorn im Hinterende der Zelle gehen soll, was v. Prowazek (1907), in seiner Entgegung erwähnt, haben wir dagegen nichts gesehen.

V. EUGLENOIDEA:

Peranema trichophorum (Ehrbg.)

Die Euglenoideen können infolge der Arbeiten von Blochmann und Keuten, Dangeard, Steuer, v. Prowazek cytologisch als die best erforschte Flagellatenordnung gelten, und ihre systematische Abgrenzung ist ohnedies schon durch ihre sonstigen charakteristischen Organisationsverhältnisse wohl fundiert (Klebs). Trotzdem haben wir die Gelegenheit, die Kern-

prazer o ensejo de estudar mais por menor em nossos preparados a divizão nuclear de uma destas fórmas, principalmente afim de indagar se não existiria tambem aqui um centriolo incluido no cariozoma (Nucleocariozoma dos autores), supozição esta que foi tambem confirmada.

A organização da *Peranema* foi bem descrita por Buetschli e ultimamente por Klebs. Juntemos-lhe apenas algumas observações sobre a inserção do flajelo e o nucleo. O flajelo, a partir da sua inserção na borda superior da boca, prolonga-se pelo interior desta até ao fundo onde termina numa granulação bazal (Est. 9, Fig. 83); ao lado desta ha outra granulação bazal, de que parte uma fibrila, semelhante a um segundo flajelo, em contato intimo com o plasma, mas alcançando apenas a abertura bucal onde termina em espessamento parecido com corpusculo bazal e não se continúa como flajelo livre. Em virtude desta organização o *Peranema* deve ser tido como flajelado biflajelado, no qual um dos flajelos atrofiou-se em parte e não como monoflajelado, segundo a opinião corrente. A inserção flajelar corresponde perfeitamente á descrita por Steuer na *Eutreptia* onde todavia, tambem, o segundo flajelo se torna livre; contúdo o proprio Steuer já notara que era um dos flajelos mais fino do que o outro. No genero *Euglena* ha apenas um flajelo, mas este, segundo Wager se divide a partir de um espessamento em fórma de granulação bazal situado no interior da cavidade bucal, e termina no fundo desta em duas granulações. No proprio *Peranema* pode tambem parecer que o flajelo se divida, si o botão terminal, aderindo ao segundo flajelo produz esta iluzão. Por isso, julgamos que a organização da *Euglena* deve ser interpretada do mesmo modo, constituindo assim este genero forma biflajelada, mas reduzida. Coexistindo em varios grupos de euglenoideas formas uni- e biflajeladas que, pelo resto

teilung eine Euglenoidee in unseren Präparaten an einer Form genauer studieren zu können, gern benutzt, vor allem, um nachzuforschen, ob nicht auch hier im Caryosom (Nucleocentrosom der Autoren) ein Centriol eingeschlossen ist, eine Erwartung, die sich auch bestätigt hat.

Der Bau von *Peranema* ist von Bütschli und zuletzt von Klebs gut beschrieben worden. Hier seien nur einige Bemerkungen über die Geisselinsertion und den Kern hinzugefügt. Die Geissel setzt sich von ihrer Insertionstelle am oberen Rande des Schlundes in denselben hinein fort bis zu dessen Grund, wo sie in einem Basalkorn endigt (Taf. 9, Fig. 83), neben diesem liegt aber ein zweites Basalkorn, von dem eine zweite geisselartige Fibrille ausgeht, die dem Plasma dicht anliegt, aber nur bis zu der Schlundöffnung sich erstreckt, wo sie in einer basalkornartigen Verdickung endigt und sich nicht als freie Geissel fortsetzt. Auf Grund dieser Verhältnisse ist aber die *Peranema* als ein zweigeisseliges Flagellat anzusprechen, wobei die eine Geissel zum Teil rückgebildet ist und nicht wie bisher angenommen wurde als ein eingeisseliges. Die Geisselinsertion entspricht vollkommen der, die Steuer von *Eutreptia* beschrieben hat, bei welcher Form aber auch die zweite Geissell als freie Geissel ausgebildet ist; doch hat Steuer schon angegeben, dass die eine der beiden Geisseln dünner ist als die andere. Bei der Gattung *Euglena* ist nur eine Geissel vorhanden, die aber nach Wager von einer basalkornartigen Verdickung im Innern des Schlundes an sich spaltet und dann am Grunde desselben mit zwei Körnern endet. Aehnlich kann aber auch bei *Peranema* die eine Geissel sich scheinbar spalten, was dadurch vorgetäucht wird, dass der Endknopf der reduzierten zweiten Geissel sich der ersten anlegt. Wir glauben daher, dass auch die Verhältnisse bei *Euglena* so zu deuten sind, und somit auch diese Gattung eine reduzierte zweigeisselige Form darstellt. Da in verschiedenen Gruppen der Euglenoideen ein- und zweigeisselige Formen neben einander vor-

da sua organização, são muito convizinhas, impõe-se a supozição de que a maioria destas fórmas uniflajeladas reprezenta biflajeladas apenas reduzidas; em todo o cazo deviam ser reexaminadas a esta nova luz.

Convem ainda mencionar o orgam em fórma de bastonete, o « *Staborgan* » de Klebs que se estende do fundo da boca para traz, terminando num vacuolo. Parecia-nos tratar-se de um tubo talvez analogo ao tubo bucal de *Entosiphon*.

O nucleo é o tipico das euglenoideas já conhecido pelas investigações de Blochmann, Keuten, Dangeard e Steuer. Contem um grande cariozoma (Nucleolocentrozoma) e um nucleo externo muito dezenvolvido, havendo sempre granulações de cromatina incluidas numa estrutura alveolar de linina. Nas preparações fixadas é rodeado por zona clara e sem estrutura ou por camada de plasma palido e intumecido. Fig. 83 etc.). Consideramos este aspeto como devido, apenas, ao processo de fixação; parece todavia que esta parte do protoplasma seja um pouco diferente da restante e mais sujeita a alterações. No nucleo ha tambem uma zona mais clara em roda do cariozoma, indicando neste cazo fenomenos de metabolismo do cariozoma que mostra, ás vezes, um centriolo dividido. Parece, assim, que este, tambem aqui, se acha sempre em faze de divizão.

A divizão nuclear se passa como na *Euglena*; o cariozoma se alonga, ao passo que as granulações cromaticas do nucleo exterior se dispoem em cromozomios. No cariozoma alongado uma boa diferenciação mostra distintamente os centriolos divididos e ligados por centrodesmoze (Fig. 84). O proprio cariozoma tem uma periferia com cromatina densa e o centro mais claro com estrutura alveolar (Fig. 84). Este ultimo ponto foi observado por Steuer na *Eutreptia*, comquanto menos distintamente. Parece acontecer, ás vezes, que a divizão

kommen, die ihrer ganzen sonstigen Organisation nach sehr nahe stehen, so liegt die Vermutung nahe, dass der grösste Teil dieser eingeisseligen Formen in Wirklichkeit reduzierte zweigeisselige sind; jedenfalls verdienen sie unter diesem Gesichtspunkt eine erneuete Untersuchung.

Zu erwähnen ist noch das sog. *Staborgan* (Klebs), das vom Grunde des Schlundes sich nach hinten erstreckt und in eine Vakuole endet. Es schien uns, dass es sich um eine Röhre handelt, die vielleicht der Schlundröhre von *Entosiphon* gleich ist.

Der *Kern* ist ein typischer Euglenoideenkern, wie er schon durch die Untersuchungen von Blochmann, Keuten, Dangeard und Steuer bekannt ist. Er enthält ein grosses Caryosom (Nucleolocentrosom) und einen sehr stark ausgebildeten Aussenkern, in dem in den Knotenpunkten eines Lininwabenwerkers stets Chromatinkörner eingebettet liegen. Im fixierten Präparat ist um ihn eine helle strukturlose Zone oder eine blasse aufgeblähte Plasmaschicht (Fig. 83, etc.) zu beobachten. Wir halten dies für ein Kunstprodukt infolge der Fixierung, doch ist wohl das Protoplasma in dieser Partie etwas verschieden von dem übrigen und besonders leicht zerstörbar. Im Kern findet sich um das Caryosom ebenfalls eine hellere Zone, hier der Ausdruck von Stoffwechselumsätzen, die sich am Caryosom abspielen. In letzterem kann man manchmal ein geteiltes Centriol beobachten, dass also auch hier sich immer im Teilungszustand zu befinden scheint (Fig. 83).

Die Kernteilung verläuft ähnlich wie bei *Euglena*; das Caryosom streckt sich in die Länge, während die Chromatinkörner des Aussenkernes sich zu Chromosomen aneinander reihen. Im gestreckten Caryosom sieht man bei guter Differenzierung deutlich die geteilten, durch Centrodesmose verbundenen Centriole (Fig. 84). Das Caryosom selbst ist an der Peripherie dicht chromatisch, im Inneren heller und zeigt Wabenstruktur (Fig. 84). Letzteres hat Steuer, wenn auch nicht so deutlich, auch

dos centriolos se faz mais rapidamente que o alongamento do cariozoma, saindo elles pelos polos (Fig. 84). Não podemos determinar se é isso um estádio normal ou se apenas se dá acidentalmente porque só uma vez prezenciámos o fato. Inclinamo-nos á ultima opinião porque tambem os cromozomios e o nucleo exterior aprezentavam aspeto anormal.

O cariozoma, normalmente, se alonga até ao limite do nucleo, aprezentando então o aspeto da Fig. 86 ; continuando o alongamento toma forma de halteres e na divizão se estica em prolongamentos longos e pontudos (Fig. 87). Quanto aos cromozomios no primeiro estádio (Fig. 84) são dispostos em sentido lonjitudinal em redor do fuzo do cariozoma, formando uma placa equatorial bem acuzada. Conseguimos contar seis cromozomios. Na divizão parece haver um estrangulamento transversal, como indica a Fig. 86, na qual a divizão dos cromozomios está quazi terminada chegando as placas filhas com as extremidades dos cromozomios até aos pólos do nucleo. Logo depois se segue o estragulamento do nucleo e a transformação dos cromozomios em nucleo exterior. Pode-se, então, ver que a principio as granulações de cromatina do nucleo exterior são distintamente dispostas em seis series lonjitudinais, trez de cada lado do cariozoma ainda muito alongado (Fig. 87), observação que se poderia citar em favor da teoria da individualidade dos cromozomios. Os cariozomas filhos, a principio, ainda formam processos compridos e ponteagudos (Fig. 87), fazendo saliencia na periferia do nucleo, mais tarde, dezaparecem e o cariozoma torna-se cuneiforme (Fig. 88) e depois esferico.

Não foi possivel acompanhar minuciozamente a multiplicação dos flajelos. Os corpusculos bazais dividem-se e parece que os flajelos são distribuidos entre os animais filhos, emquanto dos novos corpusculos bazais nacem dous flajelos novos. (Fig. 86 e

bei *Eutreptia* beobachtet. Es scheint vorkommen zu können, dass die Centriole rascher sich teilen, als das Caryosom sich streckt und dann an den Polen aus ihm heraustreten (Fig. 85). Ob das ein normales Stadium ist oder nur abnormerweise vorkommt, können wir nicht bestimmt sagen, da wir dies nur einmal beobachteten. Da dabei auch die Chromosomen resp. der Aussenkern ein ganz anormales Aussehen gewähren, neigen wir uns der letzteren Ansicht zu.

Das Caryosom streckt sich normalerweise bis zur Kerngrenze und weist dann die in Fig. 86 abgebildete Form auf ; bei noch weiterer Streckung wird es immer mehr hantelförmig und zieht sich bei der Teilung in lange, spitze Fortsätze aus (Fig. 87). Wenden wir uns nun den Chromosomen zu. Im ersten Stadium (Fig. 84) liegen sie in Längsrichtung um die Caryosomspindel und bilden so eine deutliche Aequatorialplatte. Wir konnten dabei sechs Chromosomen zählen. Bei der Teilung scheinen sie sich der Quere nach zu durchschnüren, worauf Fig. 86 hinweist, in der die Chromosomenteilung fast beendet ist und die beiden Tochterplatten mit den Enden ihrer Chromosomen bis zu den Kernpolen reichen. Kurz darauf folgt die Durchschnürung des Kernes und die Chromosomen wandeln sich nun in den Aussenkern um. Dabei kann man sehen, dass die Chromatinkörner des Aussenkernes anfangs noch deutlich zu sechs Längsreihen, drei auf jeder Seite der noch lang gestreckten Caryosome angeordnet sind (Fig. 87), eine Beobachtung, die man zu Gunsten der Individualitätstheorie der Chromosomen einführen kann. Die Tochtercaryosome sind zunächst noch in lange, spitze Fortsätze ausgezogen (Fig. 87), die über die Kerngrenze hinausragen ; später bilden sich letztere zurück und das Caryosom wird keilförmig (Fig. 88), dann kugelig.

Die Einzelheiten bei der Vermehrung der Geisseln konnten wir nicht genau feststellen. Die Basalkörner teilen sich und die alten Geisseln scheinen auf die beiden Tochtertiere verteilt zu werden, während

87). Em cada formação nova os corpusculos bazais são as mais das vezes ligados entre si. A multiplicação do orgam em bastonete realiza-se pela formação de um novo orgam ao lado do velho, entrando o primeiro na segunda metade. O modo da divizão celular se vê nas Fig. 87 e 88.

PARTE GERAL.

I. NUCLEO E APARELHO FLAJELAR DOS FLAJELADOS.

As verificações acima referidas em varios pontos reclamam a expozição das nossas ideias sobre alguns problemas gerais da citolojia dos protozoarios, principalmente no que se refere á duplicidade dos nucleos e as questões aliadas, dos centriolos, da formação dos flajelos, etc., tão discutidas nos ultimos tempos. Neste trabalho tencionamos discutir separadamente algumas destas questões, completamente, alargando, e, onde fôr precizo, reformando as nossas ideias como foram manifestadas, principalmente, no trabalho feito em colaboração por Hartmann e v. Prowazek (1907).

1. Centriolo.

Nossas pesquizas provaram que em todos os flajelados bem estudados se consegue verificar um centriolo no interior do cariozoma. Foram Schaudinn e v. Prowazek que, uzando apenas o metodo de Giemsa demonstraram pela primeira vez em 1904 a existencia de um centriolo no cariozoma dos flajelados. Mais tarde, Hartmann observou na *Entamoeba tetragena* e as amebas do tipo *limax* um centriolo e o seu comportamento na divizão nuclear (Hartmann e v. Prowazek 1907, Hartmann 1908), verificação que Naegler, dicipulo de Hartmann, conseguiu estender a grande numero de outras amebas. O fato foi confirmado por varios outros autores em mais algumas especies, de modo que a opinião manifestada no tra-

von den neu gebildeten Basalkörnern zwei neue Geisseln ihren Ursprung nehmen (Fig. 86 und 87). Die beiden Basalkörner jeder neuen Anlage sind meist durch eine Brücke verbunden. Die Vermehrung des Staborganes geschieht in der Weise, dass neben dem alten ein neues entsteht, das dann in die andere Hälfte hinüberrückt. Die Art der Zellteilung ist aus den Fig. 87 und 88 ersichtlich.

ALLGEMEINER TEIL.

I. DER KERN- UND GEISSELAPPARAT DER FLAGELLATEN.

Die vorstehenden Befunde fordern nach verschiedener Richtung zu einer Stellungnahme zu einigen allgemeinen Problemen der Protozoencytologie heraus, vor allem zu den in letzter Zeit vielfach diskutierten Anschauungen über Doppelkernigkeit und den damit verwandten Fragen über Centriole, Geisselbildung etc. Im folgenden seien daher einzelne dieser Fragen gesondert besprochen und die früheren Auffassungen, wie sie hauptsächlich in der gemeinsamen Arbeit von Hartmann und v. Prowazek (1907) niedergelegt sind, ergänzt, erweitert und, wo nötig, revidiert.

1. Centriol.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass bei allen genauer studierten Flagellaten Centriole im Caryosom nachgewiesen werden konnten. Zum ersten Male hatten Schaudinn und v. Prowazek (1904) für Trypanosomen das Vorhandensein eines Centriols im Caryosom dargetan, allerdings nur mit der Giemsamethode. Späterhin hat dann Hartmann für *Entamoeba tetragena* und *Limax*amoeben ein Centriol und dessen Verhalten bei der Kernteilung beobachtet (Hartmann u. v. Prowazek (1907), Hartmann (1908), was Hartmann's Schüler Naegler auf eine grosse Anzahl anderer Amoeben ausdehnen konnte. Der Befund wurde ferner von verschiedenen anderen Autoren für weitere Amoeben-Arten bestätigt sodass die

balho de NAEGLER que o cariozoma das amebas inclue sempre um centriolo, já pode ser considerada como fato certo. O mesmo ficou provado pelas nossas pesquizas sobre flajelados onde (fóra a observação feita por SCHAUDINN e confirmada por CHAGAS e ROSENBUSCH em 1909 com metodos citolojicos mais aperfeiçoadas) o centriolo só tinha sido assinalado na *Oxyrrhis* por KEYSSELITZ, e na *Copromonas* por BERLINER. As observações enumeradas se juntam ás nossas feitas em varias familias de *Protomonadinae* (*Cercomonas*, *Spongomonas*, *Cyathomonas*), a *Binucleata Prowazekia*, a *Cryptomonadina Chilomonas* e a *Euglenoidea Paranema*. Assim, foi o fato verificado em todas as ordens de euflajelados e o mesmo pode-se dizer dos dinoflajelados, em vista de pesquizas feitas por JOLLOS no « *Institut für Infectionskrankheiten* » e ainda não publicadas. Não sómente em amebas e mastigoforos se conhecem hoje centriolos no interior do cariozoma, mas tambem, em tecamebas (observações ineditas de SCHAUDINN em *Chlamydophrys* e *Centropyxis* e nossas em *Arcella*), em heliozoarios (KEYSSELITZ 1908, ZUELZER 1909), radiolarios (HARTMANN & HAMMER 1909) mixosporidios (AWERINZEW, KEYSSELITZ 1908) e coccidios (JOLLOS). Apenas os infuzorios parecem fazer exceção, tambem aqui achamos centriolos em algumas especies novas e temos observações que podem explicar a auzencia aparente dos centriolos e que serão referidas nestas « Memorias » em trabalhos de CHAGAS sobre novos infuzorios parazitarios e de HARTMANN sobre a *Entamoeba testudinis*.

Emfim, a prezença constante de organs centrais no cariozoma de todos os protozoarios pode hoje ser considerada um fato cientifico bem estabelecido, ficando assim a definição do cariozoma diretamente dependente da prezença do centriolo o que permite precizal-o melhor e distinguil-o dos nu-

Anschauung, die in NAEGLER's Arbeit ausgesprochen ist, dass das Caryosom der Amoeben stets ein Centriol einschliesst, jetzt schon als gesichert gelten kann. Dasselbe haben nun auch unsere Untersuchungen für die Flagellaten gezeigt, wo ausser für Trypanosomen (der SCHAUDINN'sche Befund ist inzwischen von ROSENBUSCH (1909) und CHAGAS (1909) mit cytologisch einwandfreien Methoden bestätigt) bisher nur für *Oxyrrhis* durch KEYSSELITZ und *Copromonas* durch BERLINER ein Centriol bekannt war. Dazu kommen jetzt unsere Befunde für verschiedene Familien der Protomonadinen (*Cercomonas*, *Spongomonas*, *Cyathomonas*) ferner für die Binucleate *Prowazekia*, die Cryptomonadine *Chilomonas* und die Euglenoidee *Peranema*. Somit liegen nun für sämtliche Ordnungen der Euflagellaten positive Befunde vor. Für Dinoflagellaten gilt aber nach unveröffentlichten Untersuchungen von JOLLOS aus dem Institut für Infektionskrankheiten das Gleiche. Aber nicht nur für Amoeben und Mastigophoren, sondern auch für Thecamoeben, Befunde von SCHAUDINN (Nachlass), an *Clamydophrys* und *Centropyxis*, sowie unveröffentlichte Beobachtungen von uns an *Arcella*, Heliozoen (KEYSSELITZ 1908, ZÜLZER 1909) Radiolarien (HARTMANN und HAMMER 1909) Myxosporidien (AWERINZEW, KEYSSELITZ 1908) und Coccidien (JOLLOS) sind jetzt Centriole im Caryosom bekannt. Eine Ausnahme scheinen nur die Infusorien zu machen, doch haben wir auch hier bei einigen neuen Arten Centriole gefunden und verfügen über Beobachtungen, die das scheinbare Fehlen von Centriolen zu erklären vermögen, worüber in den folgenden Arbeiten in dieser Zeitschrift von CHAGAS über neue parasitische Infusorien und HARTMANN über *Entamoeba testudinis* berichtet werden wird.

Kurz das allgemeine Vorhandensein von Zentralorganen im Caryosom aller Protozoen kann jetzt als eine wohlbegründete wissenschaftliche Tatsache gelten, und man kann daraufhin jetzt den Begriff des Caryosoms direkt von dem Vorhandensein

cleolos cromaticos (anfinucleolos). Si numa celula de protozoario o centriolo é encontrado fóra do cariozoma ou do nucleo, é possivel provar que teve a sua origem no cariozoma como mostraram SCHAUDINN (1896) e KEYSSELITZ (1908) em *Acanthocystis*, KEYSSELITZ (1908) em *Myxobolus*, HARTMANN e CHAGAS (não publicado) em hemogregarinas de cobras. A mesma geneze têm os centrozomios das gregarinas, segundo SCHNITZLER. Emquanto até ha pouco era opinião corrente que os protozoarios com poucas excepções não aprezentam centriolos, hoje, a prezença constante delles póde ser aceita, pelo menos, com o mesmo direito que nos metazoarios. Esta verificação inesperada e obtida em tão breve tempo justifica a esperança que tambem nas plantas, onde a existencia de centros tem sido negada muitas vezes, novos exames feitos com orientação nova conseguirão demonstral-a.

2. Estrutura do nucleo e mitoze.

As nossas verificações combinadas com as de pesquizadores anteriores parecem dar a possibilidade de estabelecer os traços principais da filojenia dos nucleos e da mitoze nos protozoarios. Dous dicipulos de HARTMANN, NAEGLER e BERLINER já esboçaram esta serie evolutiva, um para as amebas e outro para os flajelados. Para os ultimos queremos dar descrição mais minucioza. Os nucleos de todos os flajelados são veziculozos e da sua estrutura e divizão pode-se estabelecer *trez tipos* principais que chamamos nucleos de cariozoma: *O primeiro* reune aquelles nos quais todo o material generativo é contido no cariozoma o qual fornece o material para toda a figura mitotica. Neste tipo encontramos uma serie de variações. A mais simples e, em nossa opinião, mais primitiva consiste em cariozoma simples com zona de suco nuclear sem granulações de cromatina e sem membrana nuclear. Nas amebas é muito espalhada (VAHLKAMPF 1905, NAEGLER 1909), nos flaeines Centriols abhängig machen und ihn dadurch schärfer fassen und von chromatischen Nucleolen (Amphinucleolen) unterscheiden. Wenn sich in einer Protozoenzelle ein Centriol ausserhalb des Caryosoms resp. Kernes findet, dann sich aber, wie SCHAUDINN (1896) und KEYSSELITZ (1908) für *Acanthocystis*, KEYSSELITZ (1908) für *Myxobolus*, HARTMANN und CHAGAS (unediert) für Hämogregarinen von Schlangen nachgewiesen haben, seine Genese aus dem Caryosom nachweisen. In ähnlicher Weise kommt diese Genese auch den Centrosomen der Gregarinen zu (SCHNITZLER). Während bis vor kurzem allgemein angenommen wurde, dass die Protozoen mit wenigen Ausnahmen keine Centren aufweisen, kann jetzt das allgemeine Vorkommen derselben hier mindestens mit derselben Berechtigung angenommen werden, wie bei den Metazoen. Diese unvermutete und in so wenigen Jahren erfolgte Erkenntnis lässt die Hoffnung berechtigt erscheinen, dass auch bei Pflanzen, wo bisher Centren vielfach in Abrede gestellt werden, dieselben bei neuerer Untersuchung unter neuen Gesichtspunkten sich ebenfalls noch finden lassen.

2. Kernbau und Mitose.

Unsere Befunde scheinen uns, im Zusammenhang mit denen früherer Untersucher, ferner die Möglichkeit zu bieten, die Hauptlinien der Phylogenie der Kerne und der Mitose bei den Flagellaten aufzustellen. Die beiden Schüler von HARTMANN, NAEGLER und BERLINER, haben schon, ersterer für Amoeben, letzterer für Flagellaten, eine derartige Entwicklungsreihe kurz skizziert. Hier sei dies nun für Flagellaten genauer aufgeführt.

Die Kerne sämtlicher Flagellaten sind bläschenförmig. Wir können drei Haupttypen in Kernbau und Teilung bei ihnen aufstellen: Der *erste* Typ umfasst die *Caryosomkerne*, wie wir sie nennen wollen, bei denen alles generative Material im Caryosom enthalten ist und mithin die ganze Mitosefigur sich nur aus Caryosommaterial aufbaut. Bei diesem Typ treffen wir nun eine ganze Reihe von Variationen

jelados, pelo contrario, só parece existir no nucleo locomotor dos binucleados. Como ficou provado pelas investigações de NAEGLER não se pode aqui falar em duplicidade nuclear no nucleo em repouzo. De outro lado aparece uma duplicidade da cromatina por ocazião da mitoze, podendo-se distinguir calotas polares com centriolos ricos em cromatina, como componente locomotor do nucleo da placa equatorial generativa munida de cromozomios. E' muito frequente nos flajelados uma variedade do nucleo de cariozoma que só se distingue do das amebas, tipo *limax*, por haver membrana nuclear e granulações de cromatina bastante raras no nucleo exterior, sendo que estes ultimos se desprenderam do cariozoma em consequencia de alterações ciclicas (*Cercomonas*, *Monas*, *Oicomonas*, *Bicosoeca*). Infelizmente, nestas mesmas formas só raras vezes se encontraram fazes de divizão, mostrando todas um estrangulamento do cariozoma aparentemente amitotico (*Cercomonas* e *Monas*). Pode-se, todavia, prezumir que, procurando com insistencia aqui tambem se acharão fazes de verdadeira mitoze como nas amebas *limax* e nos tripanozômos (ROSENBUSCH e CHAGAS); seria especialmente interessante verificar neste tipo mais simplificado de nucleo flajelar a maneira de se comportar das duas componentes nucleares, a placa generativa com cromozomios e a calota polar locomotora com centriolo. Na *Spongomonas*, onde o nucleo em repouzo mostra o mesmo gráu de dezenvolvimento, a parte locomotora do nucleo é reprezentada, apenas, por um fuzo acromatico com centriolos, formando o resto da substancia do cariozoma um anel compacto de cromozomios. Neste cazo julgamos que a componente nuclear locomotora perdeu o material cromatico em consequencia de diferenciação intensa; assim observamos como um nucleo de cariozoma, aliaz de natureza primitiva, alcança um estado da parte locomotora do nucleo geralmente só conhecido nos metazoan. Die einfachste und unserer Meinung nach ursprünglichste ist ein einfaches Caryosom mit Kernsaftzone ohne Chromatinkörner und ohne Kernmembran. Sie findet sich sehr verbreitet bei Amoeben (VAHLKAMPF 1905, NAEGLER 1909), bei Flagellaten scheint sie dagegen nur in dem lokomotorischen Kern der Binucleaten vorzuliegen. Wie die Untersuchungen von NAEGLER gezeigt haben, kann von einer Doppelkernigkeit am ruhenden Kern hier nicht die Rede sein. Dagegen tritt eine Art Bichromaticität bei der Mitose zu Tage, indem stark chromatische Polkappen mit Centriolen als lokomotorische Kernkomponente von der chromosomenführenden generativen Aequatorialplatte sich unterscheiden lassen. Sehr verbreitet ist bei den Flagellaten eine Variante des Caryosomkerns, die sich nur dadurch von dem der *Limax*amoeben unterscheidet, dass eine Kernmembran sowie spärliche Chromatinkörner im Aussenkern vorhanden sind, welch letztere sich infolge von cyklischen Veränderungen vom Caryosom abgeschnürt haben (*Cercomonas*, *Monas*, *Oicomonas*, *Bicosöca*). Leider wurden gerade bei diesen Formen nur sehr selten Stadien der Kernteilung gefunden, die alle nur eine scheinbar amitotische Durchschnürung des Caryosoms zeigen (*Cercomonas* und *Monas*). Doch ist zu vermuten, dass auch hier wie bei *Limax*amoeben und Trypanosomen (ROSENBUSCH und CHAGAS) bei eifrigem Suchen auch noch echte Mitosestadien gefunden werden, und es wäre von hohem Interesse zu sehen, wie gerade hier bei dem einfachsten Kerntyp der Flagellaten die beiden Kernkomponenten, die generative Chromosomenplatte und die lokomotorische Polkappe mit Centriol sich verhalten. Bei *Spongomonas*, wo der ruhende Kern dieselbe Entwicklungsstufe zeigt, stellt sich der lokomotorische Kernanteil nur als achromatische Spindel mit Centriolen dar, um die das übrige Caryosommaterial einen kompakten Chromosomenring bildet. In diesem Falle hat unserer Meinung nach die lokomotorische Kernkomponente infolge weitgehender Differenzierung ihr chromatisches Material

zoarios. Na *Cyathomonas* o nucleo exterior é mais dezenvolvido, talvez de acordo com a diferenciação, em geral maior, das organelas vejetativas, mas, assim mesmo, é puramente vejetativo. Todavia, a mitoze do cariozoma é mais primitiva do que na *Spongomonas*; a parte locomotora do fuzo é mais grossa, contendo substancia cromatica e formando claramente calotas polares. O mesmo grau de dezenvolvimento da mitoze observa-se no binucleado *Prowazekia*, onde, todavia, tambem o nucleo em repouzo equivale a nucleo mais primitivo, quazi destituido de nucleo exterior. A parte locomotora do nucleo fornece calotas polares semelhantes a nucleos e, depois da divizão, durante as telofazes, por algum tempo as duas componentes são colocadas uma ao lado da outra quazi como se se tratasse de dous nucleos separados. Todavia, em outros binucleados bem estudados, *Trypanosoma*, *Haemoproteus* (Rosenbusch) e *Schizotrypanum* (Chagas) a componente locomotora do nucleo tem já a sua parte cromatica muito reduzida, as calotas nucleares são pequenas, a figura acromatica fuziforme, lembrando tudo o que se observa na *Spongomonas*.

Assim observamos nas protomonadinas e nos binucleados uma evolução do nucleo de cariozoma primitivo e da divizão deste, como é conhecido da *Amoeba limax*, em duas direções absolutamente independentes entre si. A primeira conduz á formação de nucleo exterior, trofico mais ou menos dezenvolvido (*Cyathomonas*) está em relação com as alterações ciclicas do cariozoma. Esta evolução é continuada no *Bodo lacertae* e nas tricomonadas, sem todavia achar na serie dos flajelados tão grande diferenciação como, por exemplo, entre as amebas, nas entamebas (veja-se o trabalho de Hartmann sobre *Entamoeba testudinis*). A segunda direção evolutiva consiste na involução da parte cromatica da componente locomotora do nucleo combinada com diferverloren, und so sehen wir bei einem sonst primitiven Caryosomkern einen Zustand des lokomotorischen Kernanteils erreicht, wie sonst nur bei den Metazoen. Bei *Cyathomonas* ist, vielleicht im Zusammenhang mit ihrer sonstigen höheren Ausbildung der vegetativen Organellen, der Aussenkern stärker entwickelt, aber ebenfalls rein vegetativ. Die Caryosommitose ist dagegen primitiver wie bei *Spongomonas*; der lokomotorische Teil der Spindel ist mehr kolbig, enthält lokomotorische Substanz und bildet deutliche Polkappen. Denselben Entwicklungsgrad der Mitose weist die Binucleate *Prowazekia* auf, bei der allerdings auch der ruhende Kern als primitiverer Flagellatenkern fast ohne allen Aussenkern gelten muss. Der lokomotorische Kernanteil liefert kernartige Polkappen und nach der Kernteilung liegen in den Telophasen die beiden Kernkomponenten eine Zeit lang fast wie zwei getrennte Kerne in einer gemeinsamen Kernhöhle nebeneinander. Bei anderen genauer studierten Binucleaten, *Trypanosoma*, *Haemoproteus* (Rosenbusch) und *Schizotrypanum* (Chagas) ist jedoch die lokomotorische Kernkomponente schon stark in ihrem chromatischen Teil reduziert; die Polkappen sind klein, die achromatische Figur ist spindelförmig, also alles schon ähnlich wie bei *Spongomonas*.

Wir finden mithin bei den Protomonadinen und Binucleaten nach zwei Richtungen hin eine Entwicklung des ursprünglichen Caryosomkernes und dessen Teilung, wie sie von *Limax*amoeben bekannt ist, zwei Richtungen, die vollkommen unabhängig von einander verlaufen. Die eine führt zur Ausbildung eines mehr oder minder stark entwickelten trophischen Aussenkernes (*Cyathomonas*) und steht mit den cyklischen Veränderungen des Caryosoms im Zusammenhang. Diese wird bei *Bodo lacertae* und *Trichomanaden* noch weitergeführt, findet aber in der Flagellatenreihe nicht die grosse Ausbildung, wie z. B. bei den Amoeben (Entamoeben) (siehe darüber die Arbeit von Hartmann über *Entamoeba testudinis*). Die zweite Entwicklungsrichtung besteht in einer

renciação maior da parte acromatica que conduz á formação completa de fuzo, como se observa nos metazoarios. Como vimos, aparece já este tipo nas protomonadinas e mesmo em fórmas que, como a *Spongomonas* ocupam pozição muito primitiva na outra direção.

O *segundo* tipo principal do nucleo de flajelados é reprezentado por nucleos com nucleo exterior permanente que, todavia, não é puramente trofico, mas contem ainda substancia generativa, a qual nas formas mais elevadas constitue uma placa equatorial com cromozomios bem nitidos. O cariozoma, porém, conserva tambem o carater de nucleo, reprezentando agora unicamente a componente locomotora do nucleo. A estrutura é alveolar ; divide-se em fórma de halteres (divizão amitotica dos autores) e ás vezes forma até um fuzo central de estrutura alveolar. Este tipo póde ser derivado do primeiro ; basta que nos cazos, onde a substancia generativa, tambem no nucleo em repouzo, se acha limitada á zona exterior do cariozoma (*Cyathomonas*), se suponha esta zona separada de modo a permanecer no nucleo exterior.

Dos cazos até hoje conhecidos deste tipo nuclear o mais simples parece-nos o da *Chilomonas*, mas, infelizmente, só se conhecem poucas fazes da divizão destas. Encontra-se tambem ainda, em modo bastante simples, numa *Euglenoidea* primitiva, a *Copromonas major*, segundo Berliner (1909) onde o cariozoma forma até um fuzo completo com uma especie de placa equatorial, emquanto a substancia exterior parece distribuir-se de modo mais irregular. Em outras euglenoideas como em *Euglena* (Blochmann, Keuten), *Eutreptia* (Steuer), *Peranema* etc. o cariozoma tem a estrutura alveolar e divide-se em forma de halteres ; mas, assim mesmo, conserva o seu carater nuclear. O nucleo exterior generativo aprezenta tranzições diferentes, de for-

Rückbildung des chromatischen Anteils der lokomotorischen Kernkomponente, verbunden mit einer höheren Differenzierung des achromatischen Anteils, die zu einer kompletten Spindelbildung in ähnlicher Weise wie bei den Metazoen führt. Wie wir gesehen haben, findet sich dieser Typ schon bei Protomonadinen, ja sogar bei Formen, die, wie *Spongomonas*, nach der ersten Richtung hin noch auf einer sehr primitiven Stufe stehen.

Der *zweite* Haupttyp der Flagellatenkerne wird repräsentiert durch Kerne mit einem dauernden Aussenkern, der aber nicht rein trophisch ist, sondern generatives Material enthält, das bei höheren Formen eine Aequatorialplatte mit scharf ausgeprägten Chromosomen bildet. Das Caryosom behält aber gleichfalls kernartigen Charakter und stellt nun allein die lokomotorische Kernkomponente dar. Es ist meist wabig gebaut, teilt sich hantelförmig (sog. amitotisch) und bildet öfters sogar eine wabig gebaute Zentralspindel. Diesen Typ kann man von dem ersten in der Weise ableiten, dass man bei solchen Fällen, wo das generative Material auch im Ruhekern schon auf die äusserste Zone des Caryosoms beschränkt war (*Cyathomonas*), sich einfach diese Zone abgetrennt denkt, sodass sie dann dauernd im Aussenkern läge.

Der einfachste bisher bekannte Fall dieses Kerntypus ist wohl *Chilomonas*, wovon wir leider nur zu wenig Teilungsstadien kennen. In gleichfalls noch einfacher Weise findet er sich ferner bei der primitiven Euglenoidee *Copromonas major* nach Berliner 1909, wo das Caryosom sogar eine vollkommene Spindel mit einer Art Aequatorialplatte bildet, während das Aussenmaterial mehr unregelmässig verteilt zu werden scheint. Bei anderen Euglenoideen, wie *Euglena* (Blochmann, Keuten), *Eutreptia* (Steuer), *Peranema* etc. ist das Caryosom wabig gebaut und teilt sich mehr hantelförmig, behält aber auch hier kernartigen Charakter. Der generative Aussenkern zeigt verschiedenartige Uebergänge von Formen, wo die generativen Chromatinkörner scheinbar regellos (ami-

mas onde as granulações de cromatina generativa parecem distribuir-se de modo irregular (amitotico?) até a outras, onde constituem cromozomios bem nitidos em numero determinado (*Peranema*). Frequentemente nas telofazes as duas partes do nucleo, o cariozoma (componente locomotora) e o nucleo exterior (cromozomios generativos) se acham numa cavidade nuclear comum dispostos como dous nucleos completamente separados (Peranema), precizamente como já observámos em algumas formas do primeiro tipo nuclear (*Prowazekia*). Registrámos tambem que este tipo nuclear póde tambem ser encontrado nas amebas e tecamebas, aprezentando as varias fazes de evolução. Assim a *Amoeba diploidea* (Hartmann e Naegler) reprezenta um cazo primitivo deste nucleo, emquanto nucleo e mitoze de *Chlamidophrys*, segundo estudos não publicados de Schaudinn lembram o que se observa em *Peranema*, como já foi notado na parte especial. Finalmente a *Amoeba diplomitotica* descrita por Aragão em 1909 pode ser comparada á divizão de *Copromonas major*, com a diferença que no nucleo exterior se forma uma placa de cromozomios distintos. O segundo tipo principal acima descrito é encontrado entre os flajelados em toda a ordem das Euglenoideas, assim como na criptomonadina *Chilomonas* e nos dinoflajelados, segundo estudos ainda inéditos de Jollos.

O *terceiro tipo nuclear* que convem distinguir está em relação estreita com o segundo. Tambem aprezenta um nucleo exterior generativo e no estado de repouzo existe um cariozoma cromatico. Na mitoze, porem, é o cariozoma completamente dissolvido; forma-se um fuzo acromatico, apenas com centriolo nos polos e a placa equatorial mostra cromozomios distintos formados, ao que parece, egualmente de substancia do nucleo exterior e do cariozoma. Este tipo tambem pode ser derivado do primeiro, partindo de fórmas parecidas a *Spongomo-*

totisch?) verteilt werden (*Chilomonas*) bis zu solchen, wo sie scharf ausgeprägte zählbare Chromosomen liefern (*Peranema*). Häufig liegen in den Telophasen die beiden Kernteile, das Caryosom (lokomotorische Komponente) und der Aussenkern (generative Chromosomen) in einer gemeinsamen Kernhöhle, wie zwei völlig getrennte Kerne, nebeneinander (*Peranema*), genau wie wir es ja schon bei einzelnen Formen des ersten Kerntypus (*Prowazekia*) gesehen haben. Erwähnt sei noch, dass dieser Kerntyp in seinen verschiedenen Ausbildungen sich auch bei Amoeben und Thecamoebem findet. So stellt die *Amoeba diploidea* (Hartmann und Naegler) einen primitiven Fall dieses Typus dar, während der Kern und die Mitose von *Chlamydophrys* nach Schaudinn (Nachlass) etwa mit den Verhältnissen von *Peranema* übereinstimmen, wie im speziellen Teil schon hervorgehoben wurde. Die *Amoeba diplomitotica* schliesslich, die Aragão (1909) beschrieben hat, ist etwa in eine Reihe mit der Teilung von *Copromonas major* zu stellen, nur mit dem Unterschied, dass im Aussenkern eine Chromosomplatte mit deutlichen Chromosomen gebildet wird. Der eben geschilderte zweite Haupttyp findet sich bei Flagellaten in der ganzen Ordnung der Euglenoideen, ferner bei der Cryptomonadine *Chilomonas*, sowie nach unveröffentlichten Untersuchungen von Jollos bei den *Dinoflagellaten*.

Der *dritte* Kerntypus, den wir unterscheiden wollen, schliesst sich dem zweiten eng an. Er enthält ebenfalls stets einen generativen Aussenkern und im Ruhestand ist ein chromatisches Caryosom vorhanden. Bei der Mitose dagegen wird das Caryosom vollkommen aufgelöst; es entsteht eine achromatische Spindel nur mit Centriolen an den Polen und die Aequatorialplatte zeigt bestimmte Chromosomen, zu deren Bildung, wie es scheint, Aussenkern und Caryosommaterial in gleicher Weise beitragen. Auch dieser Typ kann direkt von dem ersten abgeleitet werden, wenn man von Formen ausgeht, wie etwa *Spongomonas* und *Cyathomonas*, wo ja auch schon

nas e *Cyathomonas*, onde, tambem, a componente locomotora inteira apenas produz um fuzo completamente acromatico. Basta supor que, de modo egual, como no segundo tipo, parte ou a totalidade da substancia generativa se desprendeu da zona periferica do cariozoma, permanecendo no nucleo exterior, mesmo em periodo de repouzo. Este terceiro tipo se limita excluzivamente ás fitomonadinas (Dangeard, Hartmann, v. Prowazek, Reichnow etc.). Infelizmente, a geneze do fuzo ainda não foi minuciozamente estudada.

3. Aparelho flajelar.

Já em 1904 v. Prowazek em trabalho sobre flajelados estabeleceu quatro tipos de inserção dos flajelos. Os estudos mais recentes não só corroboraram a distinção destes tipos mas, tambem, aprofundaram-lhes a compreensão, partindo da descoberta fundamental de Schaudinn (1904) sobre a geneze nuclear do flajelo nos tripanozômos.

O *primeiro* e mais simples destes tipos de inserção flajelar mostra o flajelo, nacendo diretamente do centriolo incluido no cariozoma. Neste cazo a geneze póde ser considerada diretamente como divizão heteropolar do cariozoma, ou antes, do centriolo, transformando-se a centrodesmoze dos centriolos filhos (em via de afastamento) diretamente em flajelo. Parece este tipo existir apenas nas rizomastijinas.

No *segundo* tipo o flajelo nace de granulação bazal ligada por sua vez ao cariozoma ou centriolo deste, por meio de fibrila, o rizoplasto. Como na parte especial ficou demonstrado para varias fórmas, a granulação bazal e o rizoplasto que a une ao cariozoma rezultam de uma primeira divizão heteropolar do cariozoma ou do centriolo, reprezentando o rizoplasto centrodesmoze permanente. A propria formação do flajelo pela granulação bazal póde, então, ser considerada segunda divizão he-

die ganze lokomotorische Komponente eine rein achromatische Spindel lieferte. Man braucht sich nur vorzustellen, dass ähnlich wie beim zweiten Typ, ein Teil oder das ganze generative Material von der Aussenzone des Caryosoms sich abgetrennt hat und dauernd auch im Ruhezustande im Aussenkern sich findet. Dieser dritte Typus ist ausschliesslich auf die *Phytomonadinen* beschränkt (Dangeard, Hartmann, v. Prowazek, Reichenow etc.). Leider ist die genaue Genese der Spindel noch nicht eruiert.

3. Geisselapparat.

V. Prowazek (1904) hatte schon in seiner Flagellatenarbeit vier Typen der Geisselinsertion bei den Flagellaten aufgestellt. Die neueren Untersuchungen haben die Richtigkeit derselben erwiesen und zugleich im Anschluss an die grundlegende Entdeckung Schaudinn's (1904) über die Genese der Geissel aus dem Kern bei den Trypanosomen zu einem tieferen Verständnis der verschiedenen Typen geführt.

Der *erste*, einfachste Typus der Geisselinsertion ist der, dass die Geissel direkt von dem im Caryosom gelegenen Centriol ausgeht. In diesem Falle kann die Genese einfach als eine heteropole Teilung des Caryosoms resp. Centriols aufgefasst werden, wobei die Centrodesmose der auseinanderrückenden Tochtercentriole direkt zur Geissel wird. Dieser Typus scheint nur bei Rhizomastiginen vorzukommen.

Bei dem *zweiten* Typus der Geisselinsertion entspringt dieselbe von einem *Basalkorn*, das seinerseits wieder durch eine Fibrille, den *Rhizoplasten*, mit dem Caryosom, resp. dessen Centriol, verbunden ist. Wie wir im speziellen Teil für verschiedene Formen nachgewiesen haben, entsteht das Basalkorn, sowie der dasselbe mit dem Caryosom verbindende Rhizoplast, durch eine erste heteropole Teilung des Caryosoms resp. Centriols, wobei der Rhizoplast die erhaltenbleibende Centrodesmose darstellt. Die eigentliche Geisselbildung von dem Basalkorn aus kann dann als eine zweite heteropole Mitose dieses zweiten (sekun-

teropolar deste granulo que reprezenta o segundo centriolo recemformado. Assim, a granulação bazal neste cazo equivale aos centriolos secundarios na histojeneze dos espérmios. Como mostrámos na parte geral e aprofundaremos no capitulo de sistematica, este tipo flajelar se observa em todas as protomonadinas e nas fitomonadinas. Notamos tambem que o rizoplasto ou centrodesmoze primeiro, depois da formação completa do flajelo, pode ser reabsorvido, em parte, ou totalmente.

Nas formas primitivas deste tipo, o flajelo com a granulação bazal e o rizoplasto é destruido antes da divizão e formado de novo pelos nucleos filhos (*Cercomonas*, *Spongomonas*); nas fórmas mais elevadas, pelo contrario, a granulação bazal póde tornar-se de todo independente do nucleo e dividir-se separadamentente.

O *terceiro* tipo de estrutura flajelar que só se encontra nos binucleados (tripanozômos e generos vizinhos) oferece especial interesse. Como no segundo tipo o flajelo tambem aqui nace de granulação bazal ligada pelo rizoplasto ao cariozoma de um nucleo, mas este não é, como no primeiro cazo, o unico nucleo principal correspondente ao nucleo ordinario e primitivo dos flajelados (*Hauptkern*), mas um nucleo flajelar (cinetonucleo, blefaroplasto) separado e independente do nucleo principal. Como SCHAUDINN mostrou primeiro (1904), depois da fecundação o primeiro nucleo fórma por mitoze heteropolar no pólo grande o nucleo principal e no pequeno o segundo nucleo locomotor, podendo os dous cariozomas ser ligados por uma centrodesmoze que dezaparece mais tarde. Assim, a formação do nucleo flajelar rezulta da primeira mitoze heteropolar, conservando os dous decendentes o carater nuclear, quando no segundo tipo fica um delles completamente reduzido em forma de centriolo (granulação bazal). O nucleo flajelar posteriormente,

dären) Centriols (Basalkornes) betrachtet werden. Das Basalkorn ist in diesem Falle den sekundären Centriolen bei der Spermio-Histogenese gleichzustellen. Wie im speziellen Teil gezeigt und wie in dem systematischen Kapitel noch eingehender ausgeführt werden wird, findet sich dieser Geisseltypus bei allen *Protomonadinen* und den *Phytomonadinen*. Erwähnt sei noch, dass der Rhizoplast (die erste Centrodesmose) nach vollkommener Ausbildung der Geissel teilweise oder ganz eingeschmolzen werden kann. Bei den einfachen Formen dieses Typus geht die Geissel samt Basalkorn und Rhizoplast vor jeder Teilung zugrunde und wird von den Tochterkernen von neuem gebildet (*Cercomonas*, *Spongomonas*); bei höheren dagegen kann das Basalkorn vom Kern unabhängig werden und sich selbständig teilen (*Cyathomonas*).

Von besonderem Interesse ist der *dritte* Typus des Geisselbaues der Flagellaten, der sich nur bei den *Binucleaten* (Trypanosomen und Verwandten) findet. Hier entspringt, wie beim zweiten Typ, die Geissel von einem Basalkorn, das seinerseits durch einen Rhizoplasten mit dem Caryosom eines Kerns in Verbindung steht. Dieser Kern ist aber nicht, wie im ersten Fall, der einzige Hauptkern, der dem gewöhnlichen ursprünglichen Kern der Flagellaten entspricht, sondern ein besonderer, vom Hauptkern unabhängiger Geisselkern (Kinetonucleus, Blepharoplast). Wie SCHAUDINN (1904) zuerst gezeigt hat, entsteht nach der Befruchtung aus dem einen Kern durch heteropole Mitose am grossen Pole der Hauptkern, am kleinen dieser zweite lokomotorische Kern, wobei die beiden Caryosome noch durch eine Centrodesmose verbunden sein können, die später eingeschmolzen wird. Die Bildung des Geisselkernes geschieht mithin durch die erste heteropole Mitose, bei der jedoch beide Abkömmlinge dauernd ihren Kerncharakter bewahren, während beim zweiten Typus das eine Teilprodukt hierbei vollkommen reduziert, nur ein Centriol (Basalkorn) ist. Von dem Geisselkern aus wird dann in derselben Weise, wie beim

como o nucleo principal no segundo tipo dá orijem ao flajelo por meio de duas mitozes heteropolares com produtos de redução, de modo que neste cazo o flajelo reprezenta, apenas produto da terceira divizão. A divizão do nucleo flajelar (blefaroplasto) e nucleo principal faz-se independentemente; o antigo flajelo é apropriado por um dos organismos filhos, emquanto no outro ha formação de novo flajelo, por parte do blefaroplasto.

Tambem o *quarto* tipo que estabelecemos de formação de flajelo pode explicar-se por divizão tripla do centriolo, mas aqui o produto da primeira divizão não é um nucleo completo, como no primeiro cazo, mas, como no segundo tipo flajelar, apenas um centriolo (granulação bazal). Geneze deste tipo só se conhece numa forma, na *Copromonas major* (Berliner 1909). Durante a telofaze da mitoze o centriolo produz por mitoze heteropolar um rizoplasto com granulação bazal que, assim, é primeiramente ligado ao centriolo do nucleo principal (primeira divizão centriolar e centrodesmoze). Em seguida, provavelmente, apoz segunda divizão do centriolo primitivo, o rizoplasto se afasta completamente do nucleo, terminando então em segunda granulação bazal no interior da celula. O flajelo proprio é formado da primeira granulação bazal por terceira divizão (centrodesmoze). O rezultado é, como nos binucleados, uma independencia completa do nucleo por parte do aparelho flajelar; apenas a geneze é diferente. Em todas as outras formas que aprezentam este tipo flajelar (as outras euglenoideas e a criptomonadina *Chilomonas*) a formação do flajelo é de todo independente do nucleo durante a divizão como nos binucleados, pois que as granulações bazais aqui, como lá o blefaroplasto, se dividem separadamente, produzindo novos flajelos.

zweiten Typus vom ursprünglichen Kern aus, die Geissel durch zwei heteropole Mitosen mit reduzierten Sprösslingen gebildet, sodass in diesem Falle die Geissel erst das Produkt der dritten Teilung darstellt. Bei der Teilung, teilt sich der Geisselkern (Blepharoplast) und Hauptkern gesondert, die alte Geissel wird von dem einem Tochtertier übernommen, während in dem andern vom Blepharoplasten eine neue gebildet wird.

Auch der *vierte* Typus der Geisselbildung, den wir aufstellen wollen, lässt sich auf eine dreifache Teilung des Centriols zurückführen. Hier ist jedoch nicht wie im vorhergehenden Falle das Produkt der ersten Teilung ein kompletter Kern, sondern wie beim zweiten Geisseltypus nur ein Centriol (Basalkorn). Die Genese dieses Typus ist nur bei einer Form, bei *Copromonas major* bekannt (Berliner 1909). Es entsteht während der Telophase der Mitose vom Centriol aus durch eine heteropole Mitose ein Rhizoplast mit Basalkorn, der mithin wie bei Protomonadinen zunächst direkt mit dem Centriol des Hauptkernes zusammenhängt (erste Centriolteilung und Centrodesmose). Nachträglich rückt, wohl nach einer zweiten Teilung des primären Centriols, der Rhizoplast ganz vom Kern ab und endet dann in einem zweiten Basalkorn im Innern der Zelle. Die eigentliche Geissel wird von dem zuerst gebildeten Basalkorn durch eine dritte Teilung (Centrodesmose) gebildet. Das Resultat ist, wie bei den Binucleaten, eine völlige Unabhängigkeit des Geisselapparates vom Kern; nur ist die Genese eine andere. Bei allen andern Formen, die diesen Geisseltyp aufweisen (die übrigen Euglenoideen und die Cryptomonadine *Chilomonas*), ist, wie bei den Binucleaten, auch die Geisselbildung, während der Teilung, vom Kern unabhängig, da die Basalkörper (wie dort der Blepharoplast) sich selbständig teilen und von sich aus die neuen Geisseln bilden.

4 Doppelkernigkeit.

In Weiterführung der Schaudinn'schen Anschauungen, die dieser Forscher sich

4. Duplicidade nuclear.

Em continuação das ideias que SCHAUDINN tinha formado em consequencia das suas descobertas sobre a fecundação e a geneze do aparelho flajelar nos tripanozômos (1904 e 1905), HARTMANN e v. PROWAZEK em 1907 tentaram demonstrar para todas as celulas, tanto dos proto como dos metazoarios, uma duplicidade nuclear, havendo um nucleo locomotor e generativo correspondente ao blefaroplasto dos tripanozômos e outro nucleo trofico e generativo equivalente ao nucleo principal dos tripanozômos. Homologaram a granulação central dos heliozoarios, o nucleo acessorio de *Paramoeba*, o centrozomio de *Actinosphaerium*, os centrozomios das celulas dos metazoarios com o blefaroplasto dos tripanozômos, supondo que nos outros protozoarios o cariozoma se ha de interpretar como nucleo locomotor. As pesquizas posteriores deram a certeza de que a granulação central dos heliozoarios (KEYSSELITZ 1908 e ZUELZER 1909) e o blefaroplasto dos tripanozômos binucleados etc. são, realmente, nucleos completos. Especialmente para os tripanozômidas ROSENBUSCH em 1909 e CHAGAS (1909) mostraram, como nós para a *Prowazekia* que o blefaroplasto se divide por mitoze, de modo que se não póde mais duvidar da sua natureza nuclear. Mas destas mesmas observacões rezulta que tambem estes nucleos locomotores mostram duas componentes, uma locomotora (fuzo central e centriolo) e uma placa de cromozomios generativa, posto que esta já seja bastante reduzida. Isso em conjunto com os conhecimentos obtidos recentemente sobre os nucleos de cariozoma e as suas divizões (amebas *limax*) nos obriga á revizão das opiniões de HARTMANN e v. PROWAZEK. E' verdade que as pesquizas sobre os nucleos de cariozoma e suas divizões executadas precizaauf Grund seiner Entdeckungen über die Befruchtung, sowie die Genese des Geisselapparates bei Trypanosomen, gebildet hatte (SCHAUDINN 1904 u. 1905), haben HARTMANN und v. PROWAZEK (1907) den Versuch unternommen, für alle Zellen der Protozoen wie Metazoen eine Doppelkernigkeit nachzuweisen in einem lokomotorisch generativen Kern, der dem Blepharoplasten der Trypanosomen entspricht und einen trophisch generativen Kern, der dem Hauptkern der Trypanosomen gleichkommt. Dabei haben sie das Centralkorn der Heliozoen, den Nebenkern von *Paramoeba*, das Centrosom von *Actinosphaerium*, die Centrosome der Metazoenzellen mit dem Blepharoplasten der Trypanosomen homologisiert und für alle übrigen Protozoen angenommen, dass dort das Caryosom als lokomotorischer Kern anzusprechen sei. Die seitherigen Untersuchungen haben nun mit Sicherheit erwiesen, dass das Centralkorn der Heliozoen (KEYSSELITZ 1908 und ZÜLZER 1909) und der Blepharoplast der Binucleaten (Trypanosomen etc.) in der Tat komplette Kerne sind. Für dies Trypanosomen haben besonders ROSENBUSCH 1909 und CHAGAS, wie wir oben für *Prowazekia* gezeigt, dass der Blepharoplast sich mitotisch teilt. Seine Kernnatur kann danach nicht mehr in Frage gezogen werden. Gerade diese Beobachtungen haben aber ergeben, dass auch dieser lokomotorische Kern zwei Bestandteile aufweist, eine lokomotorische Komponente (Zentralspindel und Centriole) und eine generative Chromosomenplatte, die allerdings schon etwas reduziert ist. Das nötigt aber, im Zusammenhang mit den neueren Erfahrungen über die primitiven Caryosomkerne und deren Teilung (*Limax*-Amoeben), zu einer Revision der Auffassungen von HARTMANN und v. PROWAZEK. Wohl haben die Untersuchungen über die Caryosomkerne und ihre Teilungen, die, gerade auf Grund der HARTMANN-v. PROWAZEK'schen Auffassung, zum grossen Teil von ihren Schülern ausgeführt wurden, mit Sicherheit dargetan, dass in dem Caryosom ein Cytozentrum ein-

mente em consequencia das opiniões de HARTMANN e v. PROWAZEK e em grande parte por dicipulos destes, levaram á certeza de que no cariozoma se acha um citocentro incluido, como já foi exposto acima ; mas não se pode falar em duplicidade nuclear verdadeira no nucleo de cariozoma, seja do primeiro, seja do segundo tipo. Seria então precizo considerar uma celula de tripanozômo como dotada de quatro nucleos porque aqui cada um dos nucleos, tanto o principal como o flajelar (blefaroplasto), possue um citocentro e substancia generativa. Por isso, parece-nos, hoje, mais correto não falar de duplicidade nuclear no nucleo de cariozoma, mas de compozição de dois componentes diversos, o locomotor (centriolo e plastina) e o generativo. Na realidade conhecemos grande numero de nucleos de cariozoma nos quais realmente parece haver dous nucleos, um dentro do outro, como o mostram as figuras de divizão. Lembramos a divizão nuclear da *Entamoeba buccalis*, (v. PROWAZEK) e *Entamoeba tetragena* (HARTMANN), a divizão das euglenoideas, como, principalmente, a divizão nuclear da *Amoeba diplomitotica* ARAGÃO. Mas, a verdadeira duplicidade nuclear só se dá quando um anfinucleo na divizão produz dous decedentes nos quais as duas componentes nucleares, em geral, já no ato da divizão são distribuidas em gráu diferente, havendo na celula dous nucleos com diferenciação diversa, um com prevalencia da componente trofica e generativa e outro com componente, principalmente locomotora. Neste sentido, ha verdadeira duplicidade nuclear nos tripanozômos e heliozoarios, na parameba e, eventualmente, em todas as celulas de metazoarios cujos dous nucleos (nucleo e centrozomio) mostram, então, o maximo da diferenciação. Repetimos com insistencia que para nós, agora, o termo duplicidade nuclear se funda em uma divizão anterior (cario-

geschlossen ist, wie das oben schon ausgeführt wurde. Aber von einer Doppelkernigkeit im strengen Sinne kann bei einem Caryosomkern, mag er dem ersten oder zweiten Typus angehören, nicht die Rede sein ; denn sonst müsste man eine Trypanosomenzelle eigentlich für vierkernig halten, da ja dort jedem der beiden Kerne, dem Hauptkern, wie dem Geisselkern oder Blepharoplasten ein Cytozentrum und generatives Chromosomenmaterial zukommen. Daher erscheint es uns jetzt richtiger, bei einem Caryosomkern nicht von einer Doppelkernigkeit zu sprechen, sondern nur von einer Zusammensetzung aus zwei verschiedenen Kernkomponenten, einer lokomotorischen (Centriol u. Plastin) und einer generativen. Wohl kennen wir unter den Caryosomkernen eine ganze Anzahl, bei denen tatsächlich, wie besonders die Kernteilungsbilder zeigen, zwei Kerne in einander geschachtelt zu sein scheinen. Wir erinnern nur an die Kernteilung von *Entamoeba buccalis*, (v. PROWAZEK) und *Entamoeba tetragena* (HARTMANN), die Teilung der Euglenoideen, sowie vor allem die Kernteilung von *Amoeba diplomitotica* (ARAGÃO). Wie wir aber oben für die Flagellatenkerne gezeigt haben, scheinen diese Verhältnisse leichter verständlich durch die Annahme einer fortschreitenden Differenzierung und Loslösung der generativen Komponente von dem primitiven Caryosomkern. Eine echte Doppelkernigkeit dagegen ist nur möglich, wenn ein Kern (Amphinucleus) durch Teilung in zwei Abkömmlinge sich teilt, bei denen die beiden Kernkomponenten wohl in der Regel schon direkt bei der Teilung in verschiedenem Grade verteilt werden, sodass zwei verschieden differenzierte Kerne in der Zelle vorhanden sind, einer vorwiegend mit der trophisch-generativen Komponente, der andere vorwiegend mit der lokomotorischen Komponente. In diesem Sinne echte doppelkernige Zellen sind die Trypanosomen, die Heliozoen, Paramoeba und eventuell alle Metazoenzellen, deren beide Kerne dann die extremste Differenz aufwiesen (Kern und Centrosom). Um es nochmals hervor-

zoma). Neste modo de ver a importancia maior é dada á diferenciação nuclear de dous nucleos ou enerjides, separados e consecutivos a uma divizão, sendo que a diferenciação circumpolar por dentro de um nucleo unico (anficarion) não mais se considera duplicidade nuclear como antigamente. Com outras palavras, a definição do nucleo depende da prezença de um centriolo.

Aqui só indicamos rapidamente que fundado neste principio todas as celulas de flajelados podem considerar-se como bi- ou polienerjides, sendo sempre uma organização mais elevada e complexa determinada por maior numero de enerjides. Queremos dizer que cada celula de flajelado pode ser considerada bi-, tri-, tetra- etc. -enerjide conforme a formação dos flajelos e fibrilas se houve uma, duas ou tres divizões de centriolos. Neste cazo tratar-se-ia de celulas polienerjides, cujos elementos (nucleos, enerjides) são deziguais, heterologos em opozição a outras celulas e nucleos polienerjides com enerjides iguais, homologas. (Veja HARTMANN, Nucleos polienerjides, 1909). Este modo de ver significaria mais um passo para a transformação da doutrina das celulas em doutrina das enerjides.

II. SISTEMA DOS FLAJELADOS.

No seu trabalho tantas vezes citado, v. PROWAZEK já instituiu principios para uma revizão dos flajelados, bazeando-se na estrutura nuclear e na inserção dos flajelos. Aqui tentaremos chegar a uma classificação natural dos flajelados, bazeada em numero muito maior de observações e conhecimentos mais aprofundados do aparelho nucleo-flajelar como ficaram individuadamente expostos nos capitulos acima.

O *primeiro* tipo da inserção flajelar observa-se nas rizomastijinas, geralmente

zuheben: wir machen den Begriff der Doppelkernigkeit jetzt von einer stattgehabten Zweiteilung (Caryosom) abhängig. Bei dieser Betrachtungsweise ist somit das Hauptgewicht gelegt auf eine Kerndifferenzierung bei zwei, durch Teilung entstandenen, getrennten Kernen oder Energiden, und eine circumpolare Differenzierung innerhalb eines einzigen Kernes (sog. Amphicaryon), wie in der alten Fassung, wird nicht mehr als Doppelkernigkeit anerkannt. Mit andern Worten: der Begriff eines Kernes wird an das Vorhandensein eines Centriols geknüpft.

Dass sich unter Zugrundelegung dieses Prinzips jede Flagellatenzelle als bi- oder polyenergid ansprechen liesse, wobei jede höhere compliziertere Organisation durch eine grösse Anzahl von Energiden bedingt ist, sei hier nur noch kurz angedeutet. Man könnte nämlich jede Flagellatenzelle je nachdem zur Geissel- und Fibrillenbildung eine, zwei, drei etc. Centriolteilungen stattgefunden haben, als eine bi-, tri-, tetra-, etc. -energide Zelle ansprechen. In diesem Falle würde es sich um polyenergide Zellen handeln, deren Elemente (Kerne, Energiden) ungleichwertig, heterolog sind, im Gegensatz zu andern polyenergiden Zellen und Kernen mit gleichwertigen, homologen Energiden. (Vergl. HARTMANN 1909, Polyenergide Kerne). Diese Auffassung würde einen weiteren Schritt bedeuten, die Zellenlehre in eine Energidenlehre umzuwandeln.

II. DAS SYSTEM DER FLAGELLATEN.

In seiner vielfach zitierten Flagellatenarbeit hatte v. PROWAZEK schon auf Grund des Kernbaues und vor allem der Geisselinsertion Prinzipien für eine Revision des Systems der Flagellaten aufgestellt. Im folgenden wollen wir nun gestützt auf das wesentlich erweiterte Beobachtungsmaterial, sowie die vertieften Anschauungen über den Kern-Geisselapparat, die wir in den vorstehenden Kapiteln eingehend erörtert haben, versuchen, endgiltig zu einem natürlichen System der Flagellaten zu gelangen.

colocadas, de acordo com BUETSCHLI, no inicio da sub-classe dos flajelados. Aqui foi demonstrado por PLENGE e v. PROWAZEK na *Mastigamoeba*, GOLDSCHMIDT nas mastijinas, finalmente por v. PROWAZEK e por nós no *Cercobodo* (*Dimastigamoeba*). V. PROWAZEK propuzera opor este grupo como *poliaxonia* aos outros protozoarios monoaxonicos. Tendo as formas superiores destas na sua estrutura nuclear e na sua evolução seguido orientação muito diferente dos outros flajelados (como mostram as pesquizas de GOLDSCHMIDT), parece indicada a separação completa das protomonadinas, como já o fez SENN embora fundado em caracteres que nos parecem insuficientes. Consideramol-as, assim como primeira ordem de flajelados com o nome: *Rhizomastigina*. Não insistiremos na caraterização e divizão do grupo, visto que um de nós intende dar um estudo separado sobre uma *Mastigamoeba* e certa especie de *Cercobodo*.

O *segundo* tipo de inserção flajelar existe principalmente nas protomonadinas com excluzão das rizomastijinas. Deste grupo trataremos mais por menor. Na parte especial estudámos mais minuciozamente o nucleo e o aparelho flajelar de trez especies diversas. Todas ellas têm nucleo veziculozo com cariozoma relativamente grande. O nucleo exterior, pelo contrario, mostra dezenvolvimento variavel nas diversas especies, sem nunca alcançar grande diferenciação, e principalmente não conhecemos exemplo de conter substancia generativa durante a mitoze. Esta é unicamente formada de substancia do cariozoma. O aparelho nuclear em todas as formas é egual em principio, nacendo os flajelos de granulações bazais simples ou duplas (diplozomas), diretamente unidas ao cariozoma (centriolo) por uma fibrila—o rizoplasto. Já v. PROWAZEK havia assinalado estruturas semelhantes em

Der *erste* Typ der Geisselinsertion findet sich nur bei den *Rhizomastiginen*, die meist mit BÜTSCHLI an die Spitze der Flagellaten gestellt werden. Hier ist er von PLENGE und v. PROWAZEK für *Mastigamoeba*, GOLDSCHMIDT für *Mastigina* und v. PROWAZEK und uns für *Cercobodo* (*Dimastigamoeba*) nachgewiesen worden. V. PROWAZEK hatte vorgeschlagen, diese Gruppe als *polyaxonia* den übrigen monaxonen Protomonadinen gegenüberzustellen. Da sie in ihren höheren Formen in Kernbau und Entwicklung nach den Untersuchungen von GOLDSCHMIDT einen ganz anderen Weg eingeschlagen haben, wie die übrigen Flagellaten, so erscheint eine völlige Trennung von den Protomonadinen geboten, was schon SENN, allerdings — unserer Meinung nach — auf Grund unzureichender Merkmale, durchgeführt hat. Wir betrachten sie mithin als erste Ordnung der Flagellaten unter dem Namen *Rhizomastigina*. Auf die genaue Charakteristik und Einteilung der Gruppe wollen wir hier nicht weiter eingehen, da der eine von uns eine besondere Studie über eine Mastigamoebe und Cercobodoart zu bringen beabsichtigt.

Der *zweite* Typ der Geisselinsertion findet sich vorwiegend bei den Protomonadinen, nach Ausschluss der Rhizomastiginen. Mit dieser Gruppe wollen wir uns etwas näher beschäftigen. Im speziellen Teil haben wir von drei verschiedenen Gattungen der Protomonadinen, den Kern und Geisselapparat genauer kennen gelernt. Alle haben bläschenförmige Kerne mit verhältnismässig grossem Caryosom. Der Aussenkern dagegen ist bei den verschiedenen Formen verschieden stark entwickelt, erreicht jedoch nie eine grosse Ausbildung und liefert vor allem niemals, soweit bekannt, generatives Material bei der Mitose. Letztere baut sich ganz aus dem Material des Caryosoms auf. Der Geisselapparat ist bei allen Formen prinzipiell der gleiche, indem die Geisseln von einfachen oder doppelten (Diplosomen) Basalkörnern entspringen, die durch eine Fibrille, den Rhizoplasten direkt mit dem Caryosom (Centriol) in Verbindung stehen.

duas especies de *Monas* e numa *Bicosoeca* marinha ; seguiu o rizoplasto, apenas, até á membrana nuclear e não até ao cariozoma. N'uma especie de *Monas* verificámos que tambem aqui o rizoplasto nace do cariozoma (Fig. 17) ; o mesmo achamos numa especie de *Oicomonas* (Fig. 15) e outra de *Monosiga* (Fig. 16). Em outra craspedomonadina : *Salpingoeca amphoridium*, Burk acaba de descrever organização semelhante. Nas bodonaceas, com as quais se devem colocar tambem as bicozoiceas e formas semelhantes, como mostraram Lauterborn e v. Prowazek, este ultimo achou no *Bodo lacertae* condições analogas. O mesmo podemos assinalar em uma especie livre de *Bodo*, como mostra a figura do texto. Assim a estrutura do aparelho nucleo-flajelar acima descrita existe em todas as familias das protomonadinas com exceção das rizomastijinas e dos tripanozômos.

Trata-se agora de saber como estas podem ser delimitadas contra as formas superiores, as polimastijinas de Blochmann. Das trez familias de polimastijinas já Senn colocou as trimastigaceas e tetramitidas (tricomonadas) ao lado das protomonadinas, em vista da sua estrutura geral, considerando a terceira ordem especial das *Distomatina*. V. Prowazek tambem já havia indicado de modo hipotetico que as tricomonadas podiam pertencer ás protomonadinas, e mais tarde (1904) descreveu tambem na *Trichomonas lacertae* a estrutura do aparelho nucleo-flajelar carateristica para as protomonadinas, mostrando principalmente que as granulações bazais eram ligadas ao cariozoma. E' verdade que, aqui, a zona do nucleo exterior é consideravelmente mais dezenvolvida, mas, observámos isso tambem no *Bodo* e outras protomonadinas, por exemplo em *Cyathomonas*. Fatos analogos foram ha

Aehnliche Strukturen von Kern- und Geisselapparat hatte v. Prowazek für zwei *Monas*arten, sowie für eine marine *Bicosoeca* angegeben. Doch hat er dabei den Rhizoplasten nur bis zur Kernmembran, nicht bis zum Caryosom verfolgt. Wir fanden bei einer *Monas*art, dass der Rhizoplast auch hier vom Caryosom ausgeht (Fig. 17) ; genau dasselbe konnten wir ferner bei *Oicomonas* spec. (Fig. 15) und bei einer *Monosiga* spec. (Fig. 16) konstatieren. Für eine andere Craspedomonade *Salpingoeca amphoridium* hat soeben Burk ähnliche Verhältnisse beschrieben. Unter den Bodonaceen, zu denen, wie Lauterborn und v. Prowazek gezeigt haben, eigentlich auch die Bicosoiceen und Verwandte gehören, hat v. Prowazek für *Bodo-lacertae* übereinstimmende Befunde mitgeteilt. Wir können dasselbe für eine freilebende *Bodo*-Art berichten, wie Fig. A zeigt. Mithin trifft für sämtliche Familien der Protomonadinen nach Ausschluss der Rhizomastiginen und Trypanosomen der geschilderte Bau von Kern und Geisselapparat zu.

Es fragt sich nun, wie die Abgrenzung derselben gegen höhere Formen — in Betracht kommen nur die *Polymastiginen* von Blochmann—zu geschehen hat. Senn hatte schon zwei von den drei Familien der Polymastiginen, die *Trimastigacea* und die *Tetramitidae* (*Trichomonaden*) auf Grund des allgemeinen Zellbaues zu den Protomonadinen gestellt, während er die dritte Familie als eine besondere Ordnung der *Distomatina* auffasste. Auch v. Prowazek hatte schon vermutungsweise die Zusammengehörigkeit von Trichomonaden zu den Protomonadinen ausgesprochen und später (1904) hat er auch für *Trichomonas lacertae* den für die Protomonadinen charakteristischen Bau von Kern- und Geisselapparat beschrieben, vor allem eine Verbindung der Basalkörner mit dem Caryosom nachgewiesen. Die Aussenkernzone ist hier allerdings beträchtlich stärker ausgebildet, doch trafen wir das ja auch bei *Bodo* und anderen Protomonadinen z. B. *Cyathomonas*. Dieselben Verhältnisse hat soeben

pouco descritos por Bensen na *Trichomonas intestinalis* e *vaginalis* (1909). Parece, todavia, que muitas vezes nas especies de *Trichomonas* o rizoplasto dezaparece, o que explicaria como Wenyon e Dobell, embora trabalhando com bons metodos não o perceberam. Assinalamos todavia que um de nós, trabalhando com a especie estudada por Wenyon, o *Trichomonas muris* conseguiu muitas vezes distintamente perceber o rizoplasto. Assim, parece, que a associação das duas familias, as *Trichomastigaceae* e as *Tetramitidae* com as *Protomonadinae* tem fundamento citolojico bem estabelecido. E' verdade que ultimamente Dobell homologou as granulações bazais de *Trichomonas* com o blefaroplasto (nucleo locomotor) dos tripanozômos, mas nem as suas investigações, nem as de outros autores podem justificar este modo de ver. Seria precizo então, provar a natureza nuclear destas granulações bazais e a existencia de outras secundarias. Si para outras fórmas deste grupo, principalmente as de vida livre, a citolojia não é conhecida ainda, todavia, e não obstante a interpretação diferente das granulações bazais por Dobell, esta associação já pode ser considerada bem fundamentada.

Mas tambem a *terceira* familia, as *Polymastiginae*, aprezenta as mesmas relações citolojicas, como em primeiro lugar v. Prowazek provou na forma conhecida como *Octomitus muris*. A comunicação de Bensen (1909) sobre a *Lamblia* como tambem outras pesquizas ineditas de Hartmann sobre *Lamblia* e *Octomitus* (*Hexamitus*) provam a mesma couza. Os flajelos e o bastonete axial sempre nacem de um grupo de granulações bazais unidas por rizoplasto ao cariozoma do nucleo. Ha apenas uma diferença importante com as tricomonadas: todas as organelas existem em numero duplo. Supondo-se dous individuos de *Trichomastix*

Bensen (1909) für *Trichomonas intestinalis* und *vaginalis* des Menschen beschrieben. Vielfach scheint allerdings bei *Trichomonas*-Arten der Rhizoplast eingeschmolzen zu werden; so liesse sich etwa erklären, dass Wenyon und Dobell trotz guter Technik nichts davon beobachtet haben. Doch sei betont, dass der eine von uns bei *Trichomonas muris*, dem Objekt Wenyon's den Rhizoplasten häufig deutlich zu sehen bekam. Die Vereinigung dieser beiden Familien, der Trimastigaceen und Tetramitidae mit den Protomonadinen erscheint also auch auf cytologischer Grundlage wohl begründet. Allerdings hat Dobell neuerdings die Basalkörner von *Trichomonas* dem Blepharoplasten (lokomotorischen Kern) der Trypanosomen gleichgestellt. Doch liegt weder in seinen eigenen Befunden noch in denen anderer Autoren ein stichhaltiger Grund hierfür vor. Denn dazu müsste, wie bei Trypanosomen, die Kernnatur dieser Basalkörner, sowie weitere sekundäre Basalkörner nachgewiesen werden. Für andere, vor allem freilebende Formen dieser Gruppe steht allerdings noch die Cytologie aus. Trotzdem und trotz der Differenz in der Deutung der Basalkörner von Dobell kann jetzt schon die Vereinigung als wohl begründet angesehen werden.

Aber auch die *Distomatina*, die dritte Familie der *Polymastiginen* weisen die gleichen cytologischen Verhältnisse auf, wie zuerst v. Prowazek für den sogenannten *Octomitus muris* gezeigt hat. Die Mitteilung von Bensen (1909) über *Lamblia* sowie weitere unveröffentlichte Untersuchungen von Hartmann an *Lamblia* und *Octomitus* (*Hexamitus*) beweisen dasselbe. Stets entspringen die Geisseln und Achsenstäbe von einer Basalkörnergruppe, die durch einen Rhizoplasten mit dem Caryosom des Kerns in Verbindung steht. Nur ein wichtiger Unterschied gegenüber den Trichomonaden etc. ist vorhanden; es finden sich nämlich sämtliche Organellen doppelt. Wenn man sich seitlich zwei *Trichomatix*-Individuen dauernd fest verschmolzen denkt, dann hat man im Prinzip einen *Octomitus* vor sich,

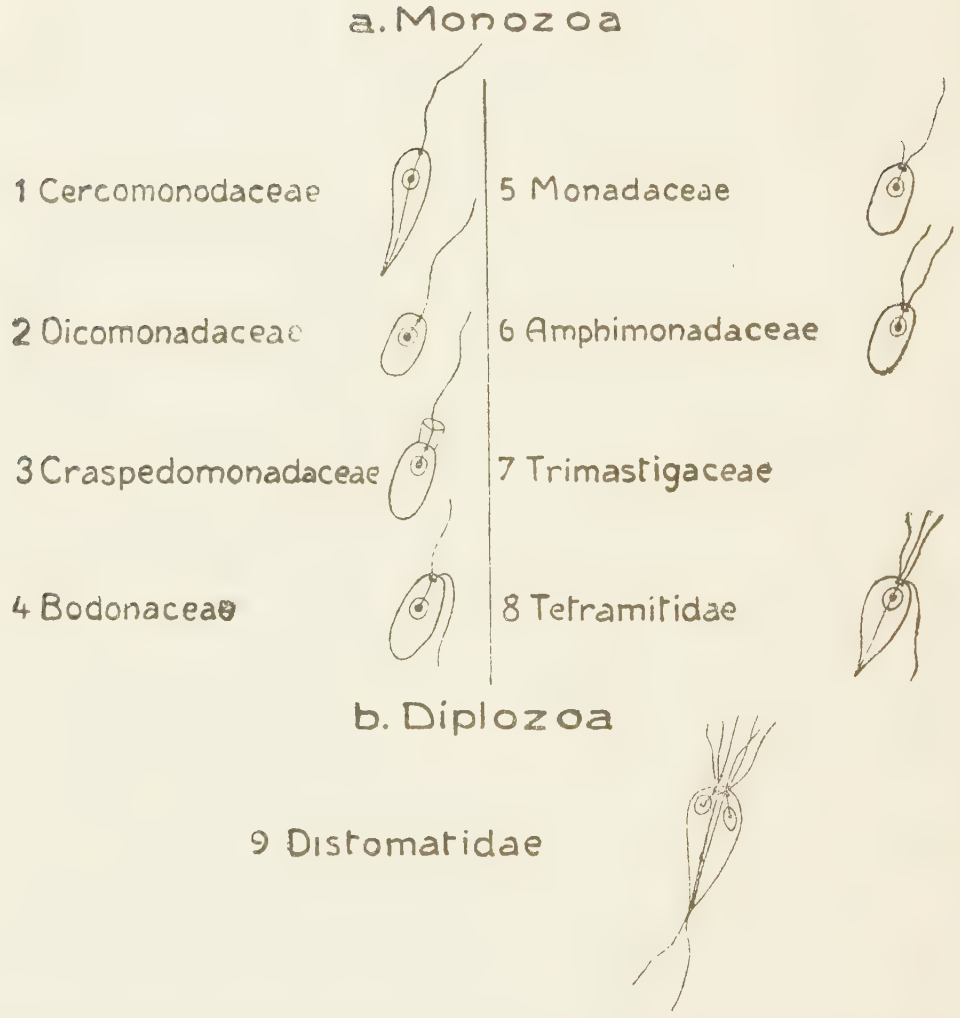
em fuzão completa e permanente, obtem-se a forma de um *Octomitus* sendo que, aqui, os flajelos caudais transpõem a celula em forma de bastonetes axiais. Evidentemente, tambem, as *Distomatinae* de vida livre são outros tantos animais gemeos, como já o prova o orificio oral duplo, carater que sujeriu o nome dado por KLEBS. Aqui tambem BUETSCHLI já notou que *Trepomonas* geralmente, tem dous nucleos separados e DANGEARD o confirmou indubitavelmente. Como esta duplicidade se orijina e como deve ser interpretada, não está ainda esclarecido, mas não tem importancia para a questão que nos ocupa. O que parece certo é que, pelo menos, as formas parazitarias estudadas, fóra da sua duplicidade, concordam citolojicamente com as *Trichomonadae* e consecutivamente com as *Protomonadinae*. Assim, nos parece indicada a sua associação ás ultimas, quereriamos todavia propor separal-as por cauza da sua individualidade dupla com o nome de *Diplozoa* das outras protomonadinas *monozoa*.

A ordem das *Protomonadinae*, portanto, para nós, seria composta das familias constantes do quadro da pajina 118.

Na dispozição das familias seguimos principalmente a BLOCHMANN e SENN, diminuindo apenas de duas as familias de SENN, a saber as *Phalangistidae* e as *Bicosoecaceae*, e juntando as primeiras ás *Craspedomonadaceae*, como o fez BLOCHMANN. O proprio SENN n'uma outra forma, nas espongomonadas não considerou o carater da formação de um envólucro gelatinozo suficiente para estabelecer familia separada e aqui o fato é o mesmo. Quanto ás bicosoecaceas segundo LAUTERBORN e v. PROWAZEK são apenas bodonaceas porque o pedunculo (« *Stiel* ») é mera modificação do flajelo caudal e a formação de um envówobei die beiden Schleppgeisseln als Achsenstäbe durch die Zelle ziehen. Auch die freilebenden Distomatina sind offenbar derartige Doppeltiere, worauf schon die doppelte Mundöffnung hindeutet, der Charakter, wonach ihnen KLEBS den Namen gegeben hat. Und BÜTSCHLI hat auch schon hier beobachtet, dass *Trepomonas* meist zwei getrennte Kerne hat, was neuerdings DANGEARD als sicher erwiesen hat. Wie diese Doppelnatur zustande kommt, und wie sie zu deuten ist, ist noch nicht aufgeklärt. Für die uns hier beschäftigende Frage ist es auch belanglos. Soviel erscheint sicher, dass zum mindesten die bisher untersuchten parasitischen Formen (*Octomitus*, *Lamblia*), abgesehen von ihrer Doppelnatur, cytologisch mit den Trichomonaden, also auch mit den Protomonadinen, übereinstimmen. Wir halten mithin auch ihre Einreihung bei den letzteren für geboten, möchten aber vorschlagen, sie wegen ihrer Doppelnatur als *Diplozoa* den übrigen *monozoen* Protomonadinen gegenüberzustellen.

Die Ordnung der *Protomonadinen* in unserem Sinne umfasst mithin die aus der Zusammenstellung auf Seite 118 ersichtlichen Familien.

In der Gliederung der Familien sind wir hierbei hauptsächlich BLOCHMANN und SENN gefolgt, nur haben wir die Zahl der monozoen Familien gegenüber SENN um zwei verringert, die *Phalangistidae* und die *Bicosöcaceae*. Die erstere haben wir, wie das auch BLOCHMANN tut, bei den Craspedomonaden eingereiht; SENN selbst hatte ja bei einer anderen Form, den Spongomonaden, den Charakter der Gallertbildung als keinen Grund zur Aufstellung einer besonderen Familie anerkannt und dieselbe bei den Amphimonaden untergebracht. Genau so liegt die Sache hier. Die Bicosöcaceen sind nach LAUTERBORN und v. PROWAZEK Bodonaceen, da der sogenannte Stiel nur eine umgewandelte Schleppgeissel darstellt und die Gehäusebildung auch nicht zur Aufstellung einer besonderen Familie genügt. Für unsere erste Familie haben wir wieder den alten Namen Cercomonadaceen gewählt, während SENN sie Oicomona-



lucro tambem não basta para estabelecer familia separada. Para a nossa primeira familia reestabelecemos o velho nome *Cercomonadaceae*, emquanto SENN a denominou *Oicomonadaceae*, tendo eliminado o genero *Cercomonas*. SENN colocou tambem aqui os generos *Leptomonas*, *Herpetomonas* e *Trypanosoma* os quais, segundo HARTMANN (veja paj. 119) formam uma ordem separada. SENN colocou tambem o genero *Oxyrrhis* nas bodonaceas, mas este, como mostra o trabalho de KEYSSELITZ, tem um nu-

daceen nannte, weil er ja die Gattung *Cercomonas* gestrichen hatte. SENN hat hier auch die Gattungen *Leptomonas*, *Herpetomonas* und *Trypanosoma* untergebracht, die jedoch nach HARTMANN eine eigene Ordnung bilden. (Näheres darüber siehe später Seite 119) Bei den Bodonaceen wird von SENN auch die Gattung *Oxyrrhis* eingereiht. Wie die Arbeit von KEYSSELITZ gezeigt hat, weist diese jedoch einen Kern auf, wie er sich sonst nur bei Euglenoideen und Dinoflagellaten findet. Derselbe stimmt besonders mit dem der Dinoflagellaten

cleo como só é observado nas euglenoideas e nos dinoflajelados. Sobretudo corresponde completamente ao nucleo da dinoflajelada *Gymnodinium*, segundo os trabalhos inéditos de Jollos do « *Institut für Infectionskrankheiten* ». Junta-se a isto o modo de multiplicação por cizão transversal completamente diverso do dos euflajelados e que tambem só se encontra nos dinoflajelados. Julgamos, por isso, que esta forma deve ser colocada entre os dinoflajelados.

O genero *Cyathomonas*, pelo contrario, não obstante a sua semelhança na estrutura celular, não é uma criptomonada, como pensam Buetschli, Blochmann e v. Prowazek, mas protomonadina tipica, devendo ser colocada na familia das anfimonadaceas, como já foi exposto na parte especial (paj. 88).

Os tripanozômos e os generos aliados (*Leptomonas*, *Herpetomonas*, *Trypanoplasma* etc.) reprezentam o terceiro tipo da inserção flajelar onde ha um nucleo locomotor separado ao qual se liga por meio de um rizoplasto uma granulação bazal de que nacem os flajelos. Por cauza deste nucleo locomotor separado, já, em 1907, Hartmann os tirou da ordem das protomonadinas, formando uma ordem especial, os *binucleados*, na qual entram tambem os hemosporidios. Contra esta modificação Doflein objetou que, de um lado a natureza nuclear do blefaroplasto não era demonstrada e este, de outro lado não se limitava aos tripanozômos. Ambas estas objeções não procedem. Já depois dos estudos fundamentais de Schaudinn e v. Prowazek não podiam subzistir duvidas sobre a natureza nuclear do blefaroplasto, e pelas observações citolojicas exatas de Rosenbusch e Chagas e as observações acima expostas na *Prowazekia* esta se acha completamente confirmada. De outro lado, as nossas verificações acima publicadas mostram que nenhum outro grupo de flajelados e principal-

Gymnodinium nach unveröffentlichten Untersuchungen von Jollos aus dem Institut für Infektionskrankheiten vollständig überein. Dazu kommt noch die von den Euflagellaten ganz abweichende Art der Vermehrung durch Querteilung, die sie ebenfalls nur mit den Dinoflagellaten teilt. Wir glauben daher, dass diese Form bei den Dinoflagellaten untergebracht werden muss.

Dagegen ist die Gattung *Cyathomonas* trotz ihrer Aehnlichkeit im Zellbau nicht, wie Bütschli, Blochmann und v. Prowazek annehmen, eine Cryptomonade, sondern eine typische Protomonadine, und ist als solche in die Familie der Amphimonadaceen zu stellen, wie schon im speziellen Teil, Seite 88, ausgeführte wurde.

Die Trypanosomen und ihre Verwandten (*Leptomonas*, *Herpetomonas*, *Trypanoplasma* etc.) repräsentieren den *dritten* Typ der Geisselinsertion, in dem ein besonderer lokomotorischer Kern vorhanden ist, mit dem durch einen Rhizoplasten ein Basalkorn verbunden ist, von dem die Geisseln entspringen. Auf Grund ihres besonderen lokomotorischen Kernes hat Hartmann (1907) sie schon aus der Ordnung der Protomonadinen entfernt und zusammen mit den sogenannten Hämosporidien eine besondere Ordnung, die *Binucleaten*, errichtet. Gegen diese Aenderung hat Doflein den Einwand erhoben, dass einmal die Kernnatur des Blepharoplasten noch nicht erwiesen sei, andererseits ein Blepharoplast nicht nur den Trypanosomen zukomme. Beide Einwände treffen nicht zu. Schon nach den grundlegenden Untersuchungen von Schaudinn und v. Prowazek konnte an der Kernnatur des Blepharoplasten kaum Zweifel bestehen, und nach den exakten cytologischen Befunden von Rosenbusch und Chagas, sowie den hier mitgeteilten Beobachtungen an *Prowazekia*, ist dieselbe vollkommen sichergestellt. Andererseits zeigen unsere hier mitgeteilten Untersuchungen, dass bei keiner anderen Flagellatengruppe, vor allem bei keiner Gattung der Protomonadinen, ein besonderer lokomotorischer Kern neben dem

mente nenhum genero de protomonadinas possue um nucleo locomotor separado ao lado do corpusculo bazal. A unica forma na qual encontrámos este acidente, a *Prowazekia cruzi*, por isso mesmo não é uma protomonadina, mas uma forma primitiva de binucleado, da qual, como já expuzemos, se pode derivar diretamente o genero parazitario *Trypanoplasma*. Talvez algum dia se encontre um flajelado do tipo da *Oicomonas* com nucleo locomotor separado que, então, de modo analogo, poderia ser considerado forma primitiva dos binucleados uniflajelados. Sobre os pormenores da justificação da ordem dos binucleados e sua subdivizão em familias veja-se um trabalho de Hartmann e Jollos que já se acha no prelo.

A respeito da quarta ordem dos flajelados, as *Chromomonadinae* (Blochmann) não ha estudos citolojicos suficientes para tirar concluzões sobre a sua pozição no sistema e a sua sub-divizão. Assim mesmo, já foram divididas por Senn em trez ordens separadas, as *Chrysomonadina*, *Chloromonadina* e *Cryptomonadina*. Tambem, já parece bastante certo que os dous ultimos grupos poucas relações naturais têm com o primeiro, porque a criptomonadina *Chilomonas*, entre as *Chromomonadinae* a unica forma bem estudada, tem a inserção flajelar do terceiro tipo e assim se aproxima das euglenas. Aproxima-se destas, tambem, pela estrutura nuclear e poder-se-ia mesmo falar de uma especie de pozição intermediaria entre as protomonadinas superiores (*Cyathomonas*), existindo já um nucleo exterior permanente. Esta estrutura nucleoflajelar justifica a questão si não seria mais correto remover as *Cryptomonadinae* das *Chromomonadinae*, colocando-as junto ás euglenoideas. Se, contra isso parece falar a diferenciação diversa dos cromatoforos, para nós não tem muita importancia, visto que tambem nos grupos das algas se acham reunidas formas com cromatoforos diferentes. Todavia, na Basalkorn vorhanden ist. Die einzige Form, bei der wir das fanden, die *Prowazekia cruzi* ist eben deshalb keine Protomonadine, sondern eine Stammform der Binucleaten. Von ihr kann, wie schon oben ausgeführt, direkt die parasitische Gattung *Trypanoplasma* abgeleitet werden. Vielleicht trifft man auch einmal ein *Oicomonas*artiges Flagellat mit besonderem lokomotorischen Kern, das dann in ähnlicher Weise als Stammform der eingeisseligen Binucleaten angesehen werden könnte. Bezüglich näherer Ausführung über die Begründung der Binucleaten und ihrer Einteilung in Familien sei auf die im Druck befindliche Arbeit von Hartmann und Jollos (1910) verwiesen.

Ueber die vierte Ordnung der Flagellaten, die *Chromomonadina* (Blochmann), liegen noch keine genügenden cytologischen Befunde vor, um bezüglich ihrer systematischen Stellung resp. Aufteilung Schlüsse ziehen zu können. Senn hat sie zwar schon in drei besondere Ordnungen aufgelöst, nämlich die *Chrysomonadina*, *Chloromonadina* und *Cryptomonadina*. Ziemlich sicher erscheint auch, dass die beiden letzteren Gruppen mit der ersteren wenig natürlichen Zusammenhang aufweisen, denn die Cryptomonadine *Chilomonas*, die einzig untersuchte Form der Chromomonadinen weist in ihrer Geisselinsertion den dritten Typ auf und stimmt somit hierin mit den Euglenen überein. Auch im Kernbau findet sich eine Annäherung an die Euglenen, ja, man könnte eventl. von einer Art Mittelstellung zwischen hochentwickelten Protomonadinen (*Cyathomonas*) und Euglenen reden, indem schon ein dauernder generativer Aussenkern vorhanden ist. Dieser Kern- und Geisselbau legt somit die Frage nahe, ob nicht mit grösserem Recht die Cryptomonadinen von den Chromomonadinen entfernt und zu den Euglenoideen gestellt würden. Dagegen spricht allerdings die verschiedene Art in der Ausbildung der Chromatophoren; doch fällt das unserer Meinung nach nicht so schwer ins Gewicht, da ja auch bei manchen Algengruppen Formen mit verschiedenen Chromatophoren

falta de outras criptomonadinas e principalmente de crizomonadinas com a citolojia bem examinada parece melhor deixar esta questão para mais tarde e conservar, provizoriamente, a ordem das cromomonadinas, no sentido de BLOCHMANN.

Como já expuzemos, a ordem das euglenoideas concorda com *Chilomonas* na estrutura nucleoflajelar, mostrando, assim, o *quarto* grupo de inserção flajelar. Alem disso, todas as euglenoideas, mesmo as formas mais simples como *Copromonas* (DOBELL, BERLINER), têm sempre um nucleo exterior generativo do qual, na mitoze das formas superiores, se formam cromozomios evidentes. A ordem das euglenoideas, estabelecida por KLEBS, fundado em condições exteriores de organização, assim tambem em relação á citolojia fórma um grupo natural. Estudos posteriores mostrarão até que ponto a subdivizão em subordens e familias preciza ser reformada, em vista das relações dos flajelos, que foram apenas mencionadas na parte geral.

A ultima ordem, as *Phytomonadinae*, é tão bem fundada e as relações de afinidade nella são tão claras que parece superfluo entrar neste assunto. Nellas a inserção flajelar não difere da das protomonadinas como mostram as observações de DANGEARD, MAIER e v. PROWAZEK para *Polytoma*, e de DANGEARD e MAIER para as *Chlamydomonadae*. O aparelho nuclear exterior contem substancia generativa, mas na mitoze os cromozomios são formados, tanto por estes, como pelos cariozomas. Como já mostrámos, tal estrutura nuclear facilmente se deriva das condições observadas nas protomonadinas superiores, por exemplo de *Cyathomonas*. Parece bastante certo que as fitomonadinas descenderam diretamente das anfimonadinas.

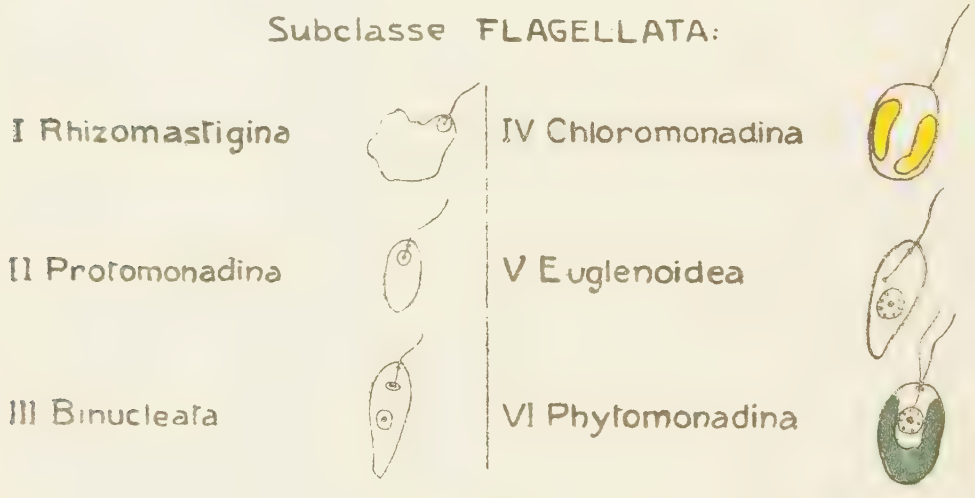
vereinigt sich finden. Da jedoch noch keine weiteren Cryptomonadinen, vor allem aber auch überhaupt keine Chrysomonadinen cytologisch untersucht sind, so ist es am besten in dieser Frage eine abwartende Stellung einzunehmen und provisorisch die Ordnung der Chromomonadinen in dem BLOCHMANN'schen Sinne beizubehalten.

Wie schon erwähnt, stimmt im Bau des Geisselapparats die Ordnung der Euglenoidea mit *Chilomonas* überein, zeigt also unseren vierten Typus der Geisselinsertion. Alle Euglenoideen, selbst die einfachsten Formen, wie *Copromonas* (DOBELL, BERLINER), haben weiterhin stets einen generativen Aussenkern, aus dem bei den höheren Formen bei der Mitose deutliche Chromosomen gebildet werden (*Peranema*). Die Ordnung der Euglenoideen, wie sie KLEBS auf Grund der äusseren Organisationsverhältnisse aufgestellt hat, ist mithin auch auf cytologischer Basis eine natürliche Gruppe. Inwieweit eine Revision der Einteilung in Unterordnungen und Familien eventuell auf Grund der im speziellen Teil gestreiften Geisselverhältnisse notwendig ist, müssen weitere Untersuchungen lehren.

Die letzte Ordnung, die *Phytomonadinen*, ist so wohl fundiert und die verwandtschaftlichen Verhältnisse in ihr liegen so klar zu Tage, dass ein weiteres Eingehen überflüssig erscheint. Bezüglich der Geisselinsertion verhalten sie sich ganz wie die Protomonadinen, wie die Beobachtungen von DANGEARD, MAIER und v. PROWAZEK für *Polytoma*, von DANGEARD und MAIER für *Chlamydomonaden* zeigen. Im Kernapparat finden wir den oben geschilderten dritten Typus, d. h. auch der Aussenkern enthält stets generatives Material, doch werden die Chromosomen bei der Mitose von diesen wie von dem Caryosom gemeinsam gebildet. Wie oben gezeigt, lässt sich ein solcher Kernbau leicht von den Verhältnissen bei höheren Protomonadien z. B. *Cyathomonas* ableiten. Man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man annimmt, dass die Phytomonadinen direkt von Amphimonadinen sich entwickelt haben.

Assim, teriamos na subclasse dos euflajelados em sentido estrito, seis ordens distintas das quais uma, a das protomonadinas, deve ser considerada provizoria. A tabela abaixo dá pelas figuras esquematicas apostas uma caraterização breve das mesmas :

Wir hätten demnach in der Subklasse der *Euflagellaten* oder *Flagellaten* im engeren Sinne sechs Ordnungen zu unterscheiden, von denen die eine, die Chloromonadinen, als provisorische anzusehen ist. Folgende Tabelle gibt durch beigefügte Schemata eine kurze Charakteristik derselben :



BIBLIOGRAFIA.

Aragão (H. de Beaurepaire) 1909 Sobre a *Amoeba diplomitotica* n. sp. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Tomo I, p. 33.

Bensen (W.) . . . . 1909 Bau und Arten der Gattung Lamblia. Zeitsch. f. Hyg. u. Infektionskrank. Bd. 61, p. 109—144. 6 Fig.

Bensen (W.) . . . . 1909 Untersuchungen über *Trichomonas intestinalis* und *vaginalis* des Menschen. Archiv f. Protistenk. Bd. 18, p. 115.

Berliner (Ernst) . . 1909 Flagellaten-Studien. Archiv f. Protistenk. Bd. 18, p. 115.

Buetschli (O.) . . 1883-87 Protozoa. In Bronn's Kl. u. Ordn. des Thier-Reichs. Vol. 1. Abt. I—II—III.

Chagas (Carlos) . . . 1909 Nova tripanozomiaze humana. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Tomo I, p. 159.

Dallinger (W. H.) et Drysdale (J.) . . 1873 Researches on the life history of a Cercomonad, a Lesson in Biogenesis. Monthl. micr. Journal. Vol. X., p. 53—58.

Dobell (C. C.) . . .	1908	Research on the intestinal Protozoa of frogs and toads. The Quarterly Journal of Microscop. Science. Vol. 53, part 2. January.
Fisch (C.)	1885	Unters. über einige Flagell. u. verwandte Organ. Zeitsch. f. wiss. Zoolog. Vol. 42, p. 47.
Hartmann (Max) . . .	1907	Das System der Protozoen. Archiv f. Protistenk. Bd. 10, p. 139.
Hartmann (Max) . . .	1908	Eine neue Dysenterieamoebe. Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12. Beiheft 5.
Hartmann (Max) und Hammer (Ernst) . .	1909	Untersuchungen über die Fortpflanzung von Radiolarien. Sitzungsberichten der Gesellschaft Naturforschender Freunde. N. 4.
Hartmann (Max) und Prowazek (S. von)	1907	Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Archiv f. Protistenk. Bd. 10, p. 306.
Keysselitz (G.) . . .	1908	Die Entwicklung von Myxobolus pfeifferi. Archiv f. Protistenk. Bd. 11, p. 252—276.
Keysselitz (G.) . . .	1908	Studien über Protozoen. Archiv f. Protistenk. Bd. 11, p. 334.
Koltzoff (N. K.) . .	1906	Studien über die Gestalt der Zelle. Archiv f. Mikr. Anat. V. 67, p. 364.
Moroff (Theodor) . .	1904	Beitrag zur Kenntnis einiger Flagellaten. Archiv f. Protistenk. Vol. 3, p. 69.
Naegler (R.)	1909	Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amoeben. Archiv f. Protistenk. Bd. 15.
Prowazek (S. von) . .	1902	Notiz ueber die *Trichomonas hominis*. Archiv f. Protistenk. Bd. I, p. 167.
Prowazek (S. von) . .	1903	Flagellaten-Studien. Archiv f. Protistenk. Bd. II, p. 195.
Prowazek (S. von) . .	1904	Unters. über einige parasit. Flagellaten. In Arb. a. d. Kais. Ges. Amt. Vol. 21, p. 1.
Prowazek (S. von) . .	1905	Studien über Saeugetiertryponosomen. Arb. a. d. Kais. Ges. Amt. Bd. XXII.
Prowazek (S. von) . .	1907	Bemerkung zu dem Aufsatz « Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten » von Awerinzew, Zool. Anzeiger. Bd. XXXI. N. 25. Zool. Anz. Bd. XXXII, p. 380—381, 3 Fig.
Prowazek (S. von) . .	1908	Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. Arbeiten aus dem Kaiserl. Ges. Amt. Bd. 21, p. 1.
Rosenbusch (T.) . . .	1908	Trypanosomen-Studien. Archiv f. Protistenk. Bd. 15, p. 263.
Schaudinn (Fr.) . . .	1896	Ueber das Centralkorn der Heliozoen. Verh. d. deutsch. Zool. Ges.
Schaudinn (Fr.) . . .	1904	Generations- u. Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete. Arb. a. d. Kais. Ges. Amt. Vol. 20, p. 387.
Senn (F.)	1900	Flagellaten. In : Engler u. Prantl, Natürliche Pflanzenfamilie. Vol. I. Abt. 1a. p. 93.
Vahlkampf (E.) . . .	1905	Beiträge z. Behandlung u. Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax*. Archiv f. Protistenk. Vol. 5.
Wenyon (C. M.) . . .	1907	Observations on the protozoa in the intestine of Mice. In Archiv f. Protistenk. Suppl. Vol. I, p. 193.
Zuelzer (Margarete) .	1909	Bau und Entwicklung von *Wagnerella borealis* Mereschk . Archiv f. Protistenk. Bd. 17, p. 135.

ESPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS.

Todas as figuras das estampas 4 a 9 (com exceção das Fig. 1 e 2, dezenhadas do vivo) foram tiradas de preparações feitas em laminulas e fixadas em estado humido com mistura de sublimado e alcool, segundo SCHAUDINN ou com liquido de HERMANN e coloridas com hematoxilina férrea, segundo HEIDENHAIN (ou ROSENBUSCH Fig. 4). As Fig. 1—17, 20 e 22—82 nas Estampas 4—8 e Fig. 90 na Estampa 9 são reproduzidas em aumento de 3.700 vezes (Zeiss. Apocr. Obj. 2mm. e Oc. Comp. 18 na altura da meza e com aparelho para dezenhar de Abbe), as Fig. 83—89 a 91 na Estampa 9 com aumento de cerca de 2.700 (Zeiss. Apocr. Obj. 2mm. e Oc. Comp. 12), as Fig. 18, 19 e 27 na Estampa 5 com aumento aproximativo de 1.600 vezes (Z. A. Obj. 2mm. e Oc. Comp. 8).

ESTAMPA 4.

Fig. 1—13 *Cercomonas parva* n. sp.
» 1—2 O mesmo individuo vivo em duas fazes de movimento diferentes.
» 3—7 Formas vejetativas; na Fig. 4 com bastonete axial distinto.
» 5 Principio de divizão nuclear, divizão de centriolo.
» 6—10 Estádios de divizão nuclear.
» 12 Cistos de rezistencia.
» 13 Começo de encistamento e formação do novo corpusculo bazal.
» 14 *Cercobodo* (*Dimastigamoeba*) sp.?
» 15 *Oicomonas* spec.?
» 16 *Monosiga* spec.?
» 17 *Monas* spec.?

ESTAMPAS 5 E 6.

SPONGOMONAS SPLENDIDA

(Fig. 18 e 22—25).

SPONGOMONAS UVELLA

(Fig. 20, 21 e 26—45).

Fig. 18 Pequena colonia de *Spongomonas splendida.*
» 19 Idem de *sp. uvella.*
» 20 Dois individuos da mesma, com a substancia gelatinoza, em aumento maior.
» 21 Grupo de formas ameboides de *Sp. uvella.*
» 22—25 Divizão nuclear e formação flajelar de *Sp. splendida.*
» 26—30 Formas vejetativas de *Sp. uvella.*
» 31—33 Divizão do centriolo nas profazes da mitoze.
» 34—43 Estádios de divizão nuclear.
» 44 Formação de corpusculos bazais e flajelos.
» 45 Divizão celular.

TAFELERKLÄRUNG.

Sämmtliche Figuren der Tafeln mit Ausnahme von Fig. 1 u. 2, die nach dem Leben gezeichnet sind, wurden nach Deckglaspräparaten entworfen, die feucht mit Subl. Alk. nach SCHAUDINN oder HERMANN'scher Flüssigkeit fixiert und mit Eisen-Hämatoxylin nach HEIDENHAIN (oder ROSENBUSCH, Fig. 4) gefärbt waren. Die Fig. 1—17, 20 u. 22—82 auf den Tafeln 4—8 u. Fig. 90 auf Taf. 9 sind bei c. 3700facher Vergrösserung wiedergegeben (Zeiss Apochr. Obj. 2mm. u. Comp. Oc. 18 in der Höhe des Arbeitstisches mit dem ABBE'schen Zeichenapparat), die Fig. 83—89 u. 91 auf Tafel 9 bei c. 2700facher Vergr. (Zeiss Apochr. Obj. 2mm und Comp. Oc. 12), die Fig. 18, 19 u. 27 auf Tafel 5 bei c. 1600facher Vergr. (Z. A. Obj. 2mm. und Comp. Oc. 8).

TAFEL 4.

Fig. 1—13 *Cercomonas parva* n. sp.
Fig. 1—2 Dasselbe Individuum in 2 verschiedenen Bewegungsphasen nach dem Leben.
Fig. 3—7 Vegetative Formen, in Fig. 4 mit deutlichem Axenstab.
Fig. 5 Beginn der Kernteilung, Centriolteilung.
Fig. 6—10 Stadien der Kernteilung.
Fig. 12 Dauercyste.
Fig. 13 Beginn der Excystierung und Bildung des neuen Basalkörpers.
Fig. 14 *Cercobodo* (*Dimastigamoeba*) sp.?
Fig. 15 *Oicomonas* spec.?
Fig. 16 *Monosiga* spec.?
Fig. 17 *Monas* spec.?

TAFEL 5 E 6

SPONGOMONAS SPLENDIDA

Fig. 18 und 22—25.

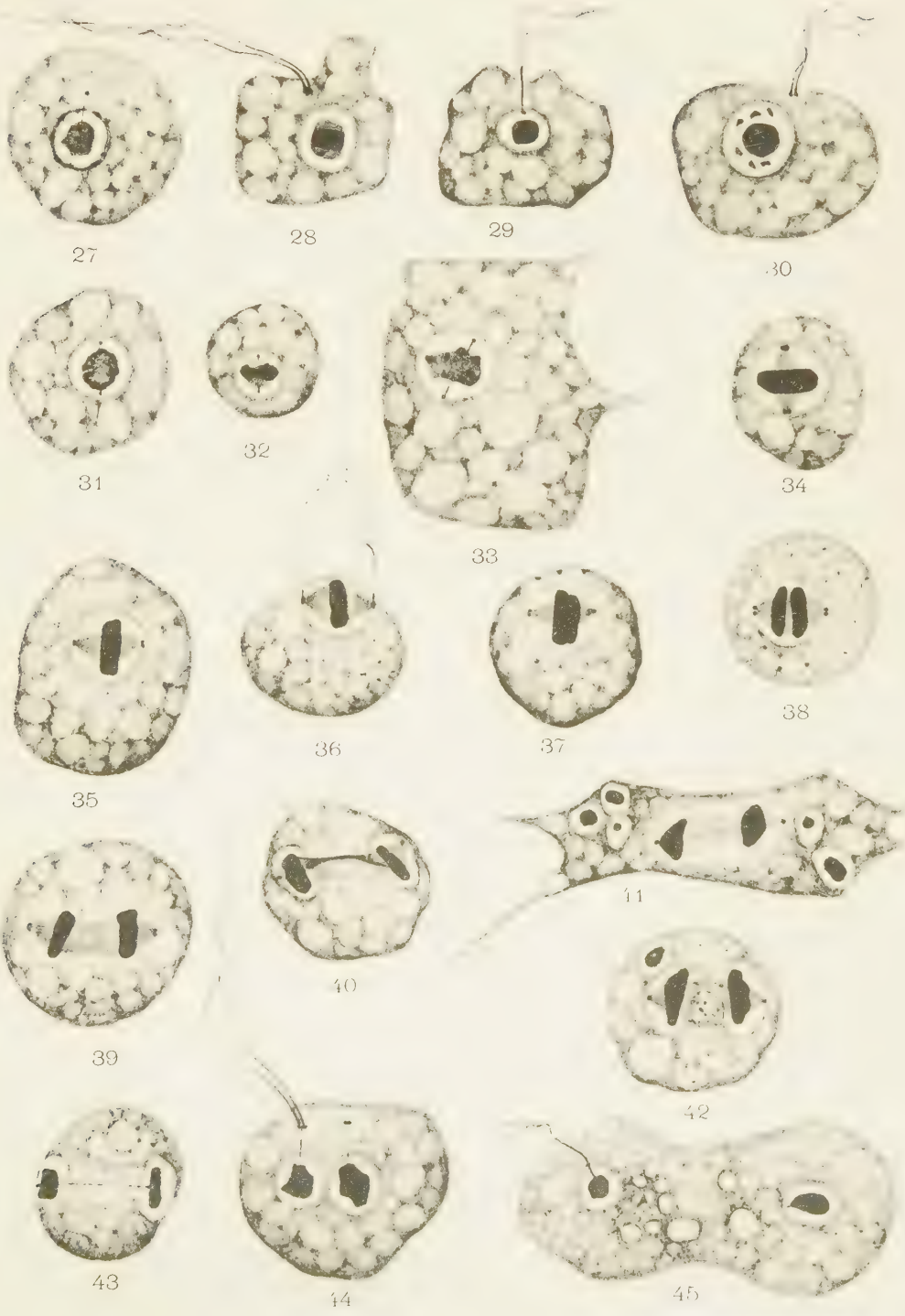
SPONGOMONAS UVELLA

Fig. 20, 21 und 26—45.

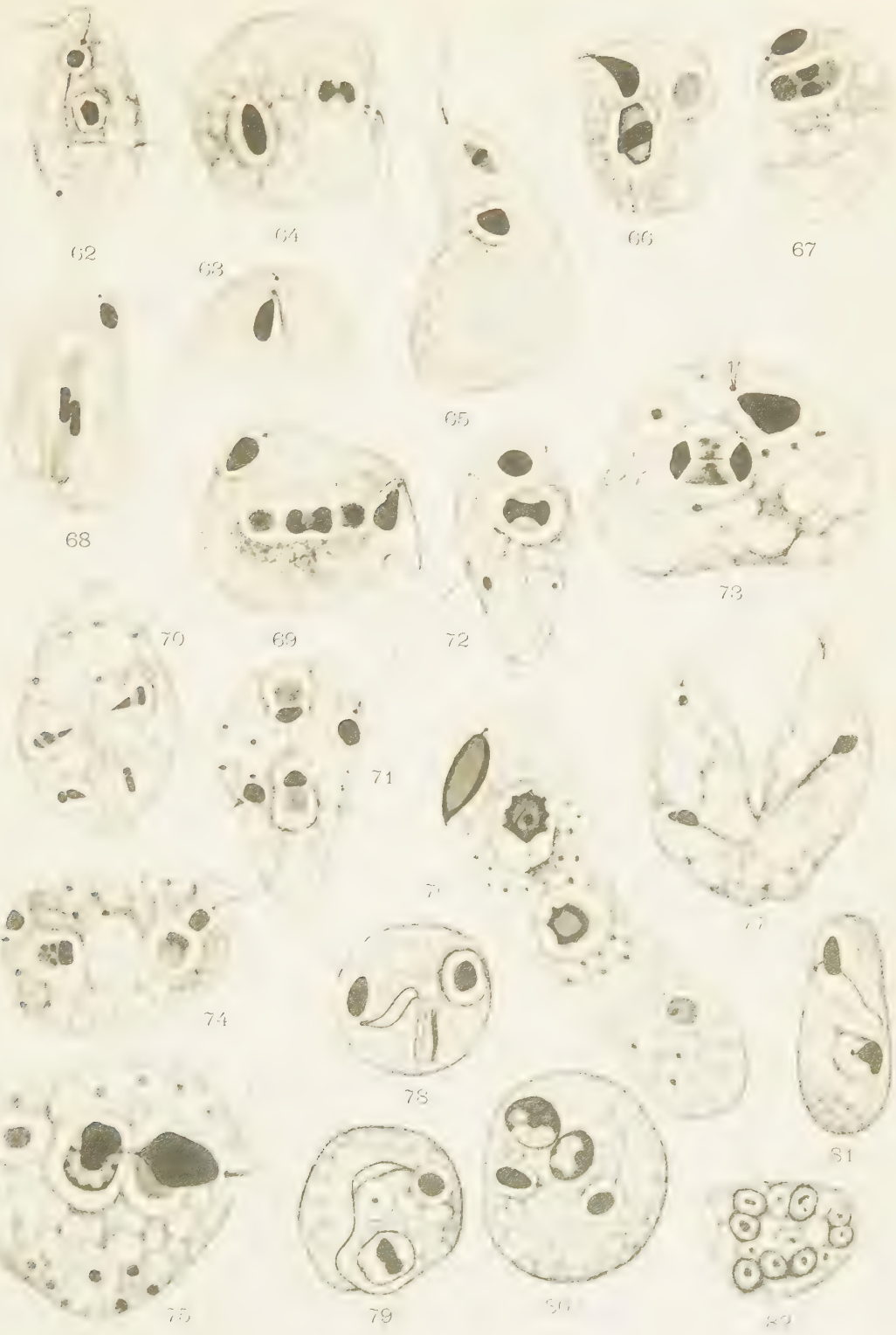
Fig. 18 Kleine Kolonie von *Spongomonas splendida.*
Fig. 19 Dasgl. von *Spongomonas uvella.*
Fig. 20 Zwei Individuen derselben mit umgebender Gallerte, stärker vergrössert.
Fig. 21 Gruppe von amoeboiden Formen von *Sp. uvella.*
Fig. 22—25 Kernteilung und Geisselbildung von *Sp. splendida.*
Fig. 26—30 Vegetative Formen von *Sp. uvella.*
Fig. 31—33 Centriolteilung in den Prophasen der Mitose.
Fig. 34—43 Stadien der Kernteilung.
Fig. 44 Bildung von Basalkörpern und Geissel.
Fig. 45 Zellteilung.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17

18
19
20
21
22
23
24
25
26


27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45

CASTRO SILVA DEL.


62
64
63
65
66
67
68
69
72
73
70
71
74
78
75
79
80
81
82

83

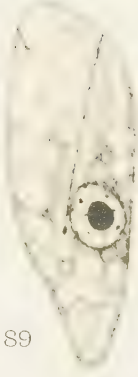
85

84

86

87

88



89

90

91

ESTAMPA 7.

CYATHOMONAS TRUNCATA.

Fig. 46—47 Formas vejetativas.
» 48 Formas vejetativas em perfil visto do lado mais curto.
» 49—52 Fórmas vejetativas, mostrando as variações ciclicas do cariozoma.
» 53—59 Fazes da divizão nuclear.
» 60 Reconstrução dos nucleos filhos.
» 61 Divizão celular e neojeneze dos rizoplastos.

TAFEL 7.

CYATHOMONAS TRUNCATA.

Fig. 46—47 Vegetative Formen.
Fig. 48 Vegetative Form von der Kante der kürzeren Seite.
Fig. 49—52 Vegetative Formen, zyklische Veränderungen am Caryosom zeigend.
Fig. 53—59 Stadien der Kernteilung.
Fig. 60 Rekonstruktion der Tochterkerne.
Fig. 61 Zellteilung und Neubildung der Rhizoplaste.

ESTAMPA 8.

PROWAZEKIA CRUZI.

» 62—63 Formas vejetativas.
» 64—65 Divizão do nucleo flajelar.
» 66—71 Divizão normal do nucleo principal.
» 72—73 Divizão abreviada do nucleo principal.
» 74—76 Reconstrução dos nucleos filhos.
» 77 Divizão celular.
» 78—81 Cistos de rezistencia; na Fig. 79 começo de divizão do nucleo principal, em 80 com 2 nucleos principais e 2 flajelares.
» 82 Esquizogonia (?)

TAFEL 8.

PROWAZEKIA CRUZI.

Fig. 62—63 Vegetative Formen.
Fig. 64—65 Teilung des Geisselkernes.
Fig. 66—71 Reguläre Teilung des Hauptkernes.
Fig. 72—73 Abgekürzte Teilung des Hauptkernes.
Fig. 74—76 Rekonstruktion der Tochterkerne.
Fig. 77 Zellteilung.
Fig. 78—81 Dauercysten; bei Fig. 79 beginnende Teilung des Hauptkerns, bei 80 mit 2 Hauptkernen und 2 Geisselkernen.
Fig. 82 Schizogonie (?).

ESTAMPA 9.

PERANEMA TRICHOPHORUM
(Fig. 83—88)
e
CHILOMONAS PARAMAECIUM
(Fig. 89—91).

» 83 Forma vejetativa de *Peranema*.
« 84—87 Divizão nuclear e neojeneze dos flajelos.
» 88 Divizão celular.
» 89 Formas vejetativas de *Chilomonas*.
» 90 Nucleo com centriolo (aumento maior).
» 91 Começo da divizão nuclear.

TAFEL 9.

PERANEMA TRICHOPHORUM
(Fig. 83—88)
und
CHILOMONAS PARAMAECIUM
(Fig. 89—91).

Fig. 83 Vegetative Form von *Peranema*.
Fig. 84—87 Kernteilung und Neubildung der Geisseln.
Fig. 88 Zellteilung.
Fig. 89 Vegetative Form von *Chilomonas*.
Fig. 90 Kern mit Centriol (stärker vergrössert).
Fig. 91 Beginn der Kernteilung.

Estudo quantitativo sobre a germinação dos esporos

PELO

Dr. A. Godoy,

Assistente.

Ueber die Keimung der Sporen

VON

Dr. A. Godoy,

Assistenten.

Já haviamos iniciado o estudo da germinação dos esporos do *bacillus anthracis* em sua relação com o tempo, considerando a termo-estabilidade como indice da sua integridade, quando apareceu o trabalho de FISCHOEDER (1909).

O que se encontra na literatura deste assunto é por demais esquematico. Atribue-se a cada temperatura determinado espaço de tempo para dezenvolvimento do bacilo. As nossas experiencias não estão de acordo com esta prezunção e, dentro de certos limites de temperatura e de tempo, se obteria nas temperaturas baixas a transformação de um certo numero de esporos no espaço de tempo que se atribue a uma mais alta, assim, como, em temperatura mais alta muitos esporos deixariam de germinar dentro do lapso de tempo em que a maioria já houvesse germinado em temperatura inferior.

Als die Arbeit von FISCHOEDER (1909) erschien, hatte ich bereits das Studium der Sporenkeimung des Milzbrandbacillus in ihrem Verhältnisse zur Zeit begonnen, wobei ich die Thermostabilität als Controlle für noch nicht eingetretene Keimung gebrauchte.

Was man in der Litteratur über diesen Gegenstand antrifft, ist allzu schematisch, indem man für jede Temperatur eine bestimmte Zeit zur Entwicklung des Bacillus aufstellt. Meine Versuche stimmen mit dieser Voraussetzung nicht überein; innerhalb gewisser Zeit- und Temperaturgrenzen könnte man die Umwandlung einer gewissen Anzahl von Sporen in einer Frist erhalten, welch einer höheren Temperatur zugeschrieben wird, während dagegen bei einer höheren Temperatur viele Sporen in einem Zeitraum, in welchem bei niedrigerer Temperatur die Mehrzahl der Sporen schon gekeimt hätte, noch nicht zur Keimung schreiten. Bei mikroskopischer Beobachtung

O tempo de vejetação de um esporo, observado microscopicamente, depende da cazualidade da escolha.

A perda da termo-rezistencia dos esporos em tempo muito curto, quando transportados para um meio nutritivo foi vulgarizada por Weil, (1901), que observou que semeando 8.600 esporos, já no fim de 10 minutos só se encontravam algumas dezenas de fórmas que rezistiam ao aquecimento. Porem, a este respeito sobresai em importancia o trabalho de Fischoeder recentemente aparecido em que é isto demonstrado á saciedade. Os esporos quando colocados em liquidos nutritivos e mesmo em agua fiziolojica perdem em curto tempo a rezistencia ao calor.

Os estudos já feitos não sendo suficientemente exatos não permitem conhecer a sequencia ou lei que reje a germinação. Não se póde com os rezultados obtidos, tratados pelo calculo chegar ao conhecimento do processo, quer em relação á sua interpretação, quer no que respeita á sua reprezentação matematica.

Preferimos de muito a perda da termo-estabilidade como indice da transformação dos esporos aos outros, tais como a dificuldade da coloração, de descoramento, o aparecimento de nova celula orijinaria do esporo, etc.

Tecnica. — De uma cultura esporulada de carbunculo faziamos emulsão em agua fiziolojica-glicerinada (1 parte de agua fiziolojica para 2 de glicerina). A emulsão era ajitada e filtrada atravez de papel de filtro de modo a serem eliminados os grumos. Tinhamos assim uma emulsão concentrada. Desta faziamos novamente outras diluições no mesmo liquido e por meio de contajens em placas semeadas com quantidade

hängt die Vegetationszeit einer Spore vom Zufalle der Auswahl ab.

Der Verlust der Thermoresistenz der Sporen kurze Zeit nach der Uebertragung auf einen neuen Nährboden wurde 1901 durch Weil bekannt; derselbe beobachtete, dass schon 10 Minuten nach dem Einsäen von 8600 Sporen, die Zahl der Formen, welche dem Erhitzen widerstanden, nur einige Zehner betrug. Weit wichtiger ist jedoch in dieser Hinsicht die neueste Arbeit von Fischoeder, in welcher dies zur Genüge nachgewiesen ist. Die Sporen verlieren in kurzer Zeit ihre Widerstandsfähigkeit gegen Hitze, wenn sie in eine Nährflüssigkeit oder auch nur in physiologische Lösung gebracht werden.

Da die bisher angewandten Methoden nicht genau genug waren, gestatten sie nicht, die Zeitfolge oder das Gesetz zu erkennen, welche den Vegetationsprocess bestimmen. Wenn man die so gewonnenen Resultate zur Berechnung braucht, gelangt man nicht zur Feststellung des Processes, weder in Hinsicht auf seine Erklärung, noch in Beziehung auf seine mathematische Darstellung.

Zum Nachweis der Umwandlung der Sporen ziehe ich den Verlust der Thermostabilität anderen Anzeichen vor, wie sie durch die Schwierigkeit der Färbung und Entfärbung, sowie durch das Auftreten der neuen aus den Sporen hervorgegangenen Zellen geboten werden.

Technik. — Von einer Milzbrandkultur mit ausgebildeten Sporen machte ich eine Emulsion in einem Teile physiologischer Lösung und zwei Teilen Glycerin. Diese wurde geschüttelt und durch Papier filtriert, so dass alle Flocken zurückgehalten wurden. Ich erhielt so eine konzentrierte Emulsion, von welcher mit derselben Lösung wieder Verdünnungen gemacht wurden, deren Sporengehalt durch Plattenkulturen berechnet wurde. Zum Ver-

conhecida julgavamos do numero de esporos por c. c. A diluição que contivesse cerca de 20.000 esporos por c. c. era a escolhida para o ensaio. O caldo que empregámos para a pesquiza da velocidade de germinação fôra preparado e distribuido em vidros de 10 c. c. que eram fechados á lampada, e continham, pois, todos, os mesmos elementos solidos, liquidos e gazozos em igual concentração.

Depois de semear 10 c. c. deste caldo com 1 c. c. da emulsão glicerinada escolhida, ajitavamos o tubo em que faziamos a mistura e em seguida adicionavamos 1 c. c. a cada tubo de vidro rezistente da serie que previamos fazer. Levavamos ao termostato. Apoz diversos espaços de tempo retiravamos um tubo que era aquecido durante 15 minutos a 65° para eliminar os esporos já transformados. Naturalmente, logo apoz a mistura tratámos tambem 1 c. c. da mistura como os seguintes, isto é, aquecemos e fizemos uma 1.ª e 2.ª placa, como já foi por nós descrito em trabalho anterior (1909); 24 ou 30 horas depois faziamos a contajem. Para maior facilidade de confronto os numeros reais de colonias obtidos foram reduzidos proporcionalmente, fazendo o numero correspondente ao tempo inicial egual a 1000.

Experiencia I

Temperatura 22°.8	N.° inicial de esporos 2485	
Minutos	Numero obs.	Numero calc.
0	1000	1000
40	311	235
70	67	79
100	19	26
130	8	8

K = 0,0157

suche wurde eine Verdünnung ausgewählt, welche etwa 20000 Sporen auf den Kubiccentimeter enthielt. Die Bouillon, welche ich bei der Berechnung der Keimungsgeschwindigkeit benutzte, wurde nach der Herstellung in Gläser von 10 ccm. verteilt; letztere wurden dann zugeschmolzen und enthielten so dieselben festen, flüssigen und gasförmigen Elemente in derselben Konzentration. Nachdem 10 ccm. Bouillon mit einem Ccm. der gewählten Emulsion geimpft waren, wurde das Röhrchen geschüttelt und jedem zur Serie gehörigen Röhrchen aus widerstandsfähigen Glase 1 ccm. zugesetzt; letztere wurden dann in den Thermostaten nach Ostwald gebracht. Nach verschiedenen Zeiträumen entnahm ich ein Röhrchen, welches während 15 Minuten auf 65° erhitzt wurde, um die bereits umgewandelten Sporen zu eliminieren. Natürlich wurde auch gleich nach Herstellung der Mischung 1ccm., wie bei den nachherigen Bestimmungen behandelt, nämlich erhitzt und zu einer ersten und zweiten Platte verwandt, wie schon in einer früheren Arbeit beschrieben wurde (1909). 24—30 Stunden später wurde die Zählung vorgenommen. Zur Erleichterung der Vergleichung wurden die wirklich erhaltenen Werte der Kolonienzahlen entsprechend reduciert, so dass die Zahl, welche der Anfangszeit (0 Minuten) entsprach 1000 betrug.

Versuch I

Temperatur 22°.8	Ursprüngliche Sporenzahl 2485	
Minuten	Gefundene Zahl	Berechnete Zahl
0	1000	1000
40	311	235
70	67	79
100	19	26
130	8	8

K = 0.0157

Experiencia II

Temperatura 28°	N.° inicial de esporos 1622	
Minutos	Numero obs.	Numero calc.
0	1000	1000
8	430	400
15	210	180
25	72	75
35	52	67
	K = 0,05	

Como se póde concluir das experiencias acima o processo é regular e obedece á mesma formula que as reações monomoleculares. Os valores calculados foram obtidos por seu intermedio.

Cotejemos os dois valores de K correspondentes ás temperaturas de 22°,8 e 28°, chegaremos de acordo com a formula VAN T'HOFF

$$\frac{c_1}{c_2} = e^{\frac{\mu}{2}\left(\frac{T_1 - T_0}{T_0\, T_1}\right)}$$

(c_1 e c_2 indicam as velocidades nas temperaturas T_0 e T_1—temperaturas absolutas— e onde R, em calorias, seria egual a 2, μ uma constante) a um valor de μ egual a 19.800. Valor este que aproxima esta reação do grupo das ações hidrolizantes, zimoticas, toxicas etc. Para um intervalo de 10 gráos de temperatura dar-se-ia um aumento da velocidade da reação de cerca de 6 vezes.

Rezulta ainda de nossa pesquiza que se não póde estabelecer um tempo inicial para a germinação dos esporos; o fenomeno se passa como se fosse iniciado num tempo

Versuch II

Temperatur 28°	Ursprüngliche Sporenzahl 1622	
Minuten	Gefundene Zahl	Berechnete Zahl
0	1000	1000
8	430	400
15	210	180
25	72	75
35	52	67
	K = 0.05	

Wie man aus den obigen Experimenten schliessen kann, verläuft der Process regelmässig und gehorcht derselben Formel, wie die monomolekularen Reaktionen. Die berechneten Werte wurden mit derselben gefunden.

Bei Vergleichung der beiden Werte von K entsprechend den Temperaturen von 22.8 und 28.0° erhalten wir in Uebereinstimmung mit der Formel von VAN T'HOFF

$$\frac{c_1}{c_2} = e^{\frac{\mu}{2}\left(\frac{T_1 - T_0}{T_0\, T_1}\right)}$$

(wobei c_1 und c_2 die Reaktionsgeschwindigkeit bei den Temperaturen T_0 und T_1 — absolute Temperaturen—angibt; R in Kalorien = 2, und μ eine Konstante ist) einen Wert von μ = 19800, welcher die Reaktion der Gruppe der hydrolysierenden, zymotischen und dergl. Wirkungen nähert.

Für ein Intervall von 10 Temperaturgraden erhält man eine ca. 6malig Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit.

Aus meiner Untersuchung geht noch hervor, dass man für die Keimung der Sporen keine Anfangszeit aufstellen kann; die Erscheinung verläuft, wie wenn sie in

infinitamente pequeno e correspondesse sua velocidade á constante K = 0.0158 na temperatura de 22°.8.

Conhecido pelos trabalhos de MADSEN e MAX NYMAN (1907) a aplicabilidade das referidas formulas á destruição dos esporos tanto pelas altas temperaturas como pelos dezinfetantes, rezulta que se póde julgar a germinação dos esporos como uma destruição, dando-se neste cazo uma transformação da substancia termoestavel sem, porem, aniquilar a vida.

Concluimos dizendo que a germinação é comparavel a um fenomeno de destruição monomolecular e que provavelmente obedece, no que diz respeito á influencia da temperatura, á formula de VAN T'HOFF—ARRHENIUS.

einer unendlich kurzen Zeit begonnen hätte und ihre Geschwindigkeit einer Konstanten K = 0.0158 bei einer Temperatur von 22°.8 entspräche.

Da durch die Arbeiten von TH. MADSEN und MAX NYMAN (1907) die Anwendbarkeit der erwähnten Formeln auf die Zerstörung der Sporen sowohl durch hohe Temperaturen, als durch Desinficientien erwiesen ist, folgt, dass man die Keimung der Sporen als eine Zerstörung ansehen kann, indem in diesem Falle eine Zerstörung der thermostabilen Substanz ohne Verlust des Lebens stattfindet.

Ich schliesse mit der Feststellung, dass die Keimung der Sporen sich mit einem monomolecularen Zerstörung vergleichen lässt und in Hinsicht auf den Einfluss der Temperatur wahrscheinlich der Formel von VAN T'HOFF-ARRHENIUS entspricht.

BIBLIOGRAFIA.

WEIL	1901	Archiv f. Hyg., Bd. 36, S. 205.
TH. MADSEN und MAX NYMAN . . .	1907	Oversigt over d. k. danske Vid. Selskabs Forth. N. 3. Apud Communications de l'Institut Sérotherapique de l'Etat Danois. Extraits. Tome II. 1908.
F. FISCHOEDER . . .	1909	Centralblatt f. Bakt. etc. I Abt. Bd. 51, Heft 4.
A. GODOY	1909	Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Tomo I, p. 81

Formação de raça do hematozoario do impaludismo rezistente á quinina

PELO

Dr. Arthur Neiva,

Assistente.

Ueber die Bildung einer chininresistenten Rasse des Malariaparasiten

VON

Dr. Arthur Neiva,

Assistenten am Institute.

Raras vezes terá havido ocazião de se observar cuidadozamente em material humano tão abundante e, em condições correspondentes quazi ás de uma pesquiza de laboratorio, como a que nos levou a fazer esta comunicação. Assim é, que, durante 11 mezes, em localidade eminencialmente palustre ligada por estrada de ferro á cidade do Rio de Janeiro, onde essa molestia raras vezes se manifesta, observámos durante o espaço de 20 mezes a media mensal de 3.000 operarios, que por aí passaram, vindo quazi todos desta cidade e aí permaneceram mais ou menos tempo. Desses individuos, era uma parte submetida obrigatoriamente ao uzo da quinina.

Do que foi observado, e que abaixo descrevemos mais detidamente, reléva o seguinte:

1. *As dozes de quinina e a frequencia da sua administração, que a principio eram suficientes para combater o impaludismo, tornam-se mais tarde insuficientes, de modo a ser indispensavel aumental-as para atinjir o mesmo fim.*

Nur selten bietet sich die Gelegenheit, an einem so reichen Krankenmaterial und unter Bedingungen, welche denjenigen eines Laboratoriumsversuches ähnlich sind, genaue Beobachtungen anzustellen, wie es mir in dem Falle möglich war, welcher der vorliegenden Mitteilung zu Grunde liegt. Es konnte nämlich innerhalb eines Zeitraumes von 20 Monaten an einem ausgesprochenen Malariaheerde, welcher mit Rio de Janeiro, wo die Krankheit nur selten vorkömmt, in Einsenbahnverbindung steht, ein monatlicher Durchschnitt von 3000 Arbeitern beobachtet werden, die sich einige Zeit daselbst aufhielten; sie kamen fast alle von Rio, wo sie kürzere oder längere Zeit gewohnt hatten. Ein Teil dieser Leute wurde einer obligatorischen Chininbehandlung unterworfen.

Aus meinen Beobachtungen, die ich weiter unten genauer beschreibe, lässt sich Folgendes deutlich erkennen:

1. *Die Grösse der Dosen und die Häufigkeit ihrer Darreichung, welche Anfangs zur Bekämpfung der Malaria hinreichten, erwiesen sich später als unzulänglich, so dass zur Erreichung desselben Zweckes eine Erhöhung derselben nötig wurde.*

2. *Os individuos que, graças á quinização regular, permaneciam nessa localidade sem ter um só acesso de impaludismo, contraíam-no ao voltar para a cidade livre da malaria, quando julgavam poder cessar o uzo da quinina. (Entre outros cazos, o nosso).*
3. *As dozes de quinina que a principio eram eficazes como meio terapeutico, tornaram-se incapazes, mais tarde, de produzir o mesmo efeito.*

Em Janeiro de 1907, foram iniciados sob a direção do Dr. Sampaio Corrêa trabalhos em zonas do Estado do Rio de Janeiro denominadas Xerém e Mantiquira, com o fim de utilizar e transportar as aguas dos rios destes nomes, para o abastecimento da cidade do Rio de Janeiro. Estas zonas que distam da cidade 60 qm., são accessiveis em 3 horas de estrada de ferro.

A epoca da exacerbação epidemica começa em Outubro, atinje o auje em Janeiro e Fevereiro, e em Maio está em pleno declinio.

A temperatura de Dezembro a Março é reprezentada por uma media mensal que varia de 23° a 24° C..

Sendo uma localidade essencialmente pantanoza e, não havendo na exploração da Estrada de Ferro, serviço de profilaxia conveniente, os trabalhos anteriormente executados eram interrompidos nos mezes epidemicos, adoecendo de malaria 96 % dos individuos empregados nesse serviço, sendo muito elevada a mortalidade.

Mais tarde, foi então iniciado com intensidade, o serviço da captação das aguas, e o nosso Instituto, encarregado do serviço da campanha antipaludica, tendo sido o Dr. Chagas e nós em Fevereiro de 1907 dezignados para dar começo a esse serviço.

A zona sob nossa fiscalização, era reprezentada por uma faixa de terreno desde

2. *Die Leute, welche in Folge regelmässigen Chiningebrauches an Ort und Stelle frei von Malariaanfällen blieben, bekamen solche nach ihrer Rückkehr in die malariafreie Stadt, wenn sie glaubten, mit dem Chiningebrauche aufhören zu können, wie ich an mir selbst beobachtete.*
3. *Die zu Anfang therapeutisch wirksamen Dosen waren später nicht im Stande, dieselbe Wirkung zu erzielen.*

Im Januar 1907 wurden unter Leitung von Dr. Sampaio Corrêa mit Arbeiten für die Wasserversorgung von Rio de Janeiro begonnen, durch welche das Wasser der Flüsse Xerém und Mantiquira in den gleichnamigen Zonen des Staates Rio de Janeiro gefasst und hingeleitet wurde. Diese von der Hauptstadt 60 Kilometer entfernten Gegenden sind in dreistündiger Einsenbahnfahrt zu erreichen.

Die Krankheit beginnt im Oktober epidemisch aufzutreten, erreicht ihren Höhepunkt im Januar und Februar und ist im Mai in entschiedener Abnahme begriffen.

Von Dezember bis März beträgt die monatliche Durchschnittstemperatur 23 bis 24°.

Da die Gegend äusserst sumpfig ist und bei den Vorarbeiten für den Eisenbahnbau keine zweckmässige Prophylaxe stattfand, wurde damals die Tätigkeit während der Epidemiemonate eingestellt, indem von den Leuten 96% erkrankten und die Mortalität sehr bedeutend war.

Als später die Arbeiten für die Fassung energisch in Angriff genommen wurden, beauftragte man das Institut mit der Malariabekämpfung, wobei Dr. Chagas und ich mit der Einleitung derselben beauftragt wurden.

Die von mir beaufsichtigte Zone war ein Streifen Landes, der von der Ortschaft Pavuna an die Stadt Rio grenzt, welche sich einerseits nach der Fazenda Galrão

a localidade Pavuna, zona limitrofe com a cidade do Rio de Janeiro, até a fazenda do Galrão por um lado, e, por outro, compreendia os trabalhos de colocação de encanamentos e construção da estrada de ferro, que se efetuavam nos rios Rejistro, João Pinto e Xérem, o que dava a extensão de 70 qm. aproximadamente.

Muitos pontos eram completamente alagados e de tal modo que os operarios, trabalhavam mergulhados na agua até á cintura. A duração do trabalho era no minimo de 11 horas, havendo ainda os serões de 12 horas, divididos em 2 turmas; geralmente, os operarios executavam o trabalho do dia e mais $^1/_4$ de serão, isto é, um total de 14 horas de trabalho penozissimo.

Os operarios dormiam em ranchos cobertos de sapê sem a menor proteção mecanica, em numero que a principio de 350 apenas, atinjiu a perto de 4.000 operarios em trabalho quotidiano.

Nas condições referidas, só pareceu indicada a profilaxia quinica, contra a qual, porem, findo algum tempo, se rebelaram os trabalhadores, já por natural ignorancia, já por pertencerem á uma classe infima composta de elementos heterojenios, oriundos de todos os paizes, indiciplinados por indole e que só aí se juntaram por falta de trabalho em outra parte.

Como medida de coerção, só era possivel demitir áquelles que se não queriam submetter ás nossas prescrições. A distribuição da quinina era feita por auxiliares de toda a confiança, que observavam cada individuo até a deglutição da doze da quinina, e consequente verificação de que a capsula não tinha sido empalmada, atirada dentro da roupa ou escondida debaixo da lingua, para ser em seguida deitada fóra.

Logo que se observava uma infração, se o operario se obstinava em recuzar a capsula, era o infrator *in-continenti* despedido.

Este trabalho embora penozissimo foi feito com todo o rigor devido á dedicação

erstreckte und andererseits die Arbeiten für die Legung der Leitung und den Bau der Eisenbahn an den Flüsschen Registro, João Pinto und Xerém begleitete, deren Ausdehnung ungefähr 70 Kilometer betrug.

Viele Strecken waren vollständig überschwemmt, so dass die Arbeiter bis zum Gürtel im Wasser arbeiten mussten Die Arbeitszeit betrug im Minimum 11 Stunden; dazu kam noch eine, in zwei Abteilungen geteilte, zwölfstündige Nachtarbeit. Gewöhnlich leisteten die Leute die Tages- und den Viertel einer Nachtarbeit, das heisst im Ganzen vierzehn Stunden angestrengtester Tätigkeit.

Die Arbeiter schliefen in mit Gras gedeckten, offenen Schuppen, ohne weiteren Schutz; ihre Anzahl betrug anfangs kaum 350, erreichte aber später nahezu 4000 bei täglicher Arbeit.

Unter den geschilderten Verhältnissen schien nur die Chininprophylaxis am Platze; doch lehnten sich die Arbeiter nach einiger Zeit gegen dieselbe auf, teils aus natürlicher Unwissenheit, teils weil es sich um eine Ansammlung heterogenster Elemente aus aller Herren Ländern handelte, welche zur niedrigsten Klasse gehörten und ihrer Natur nach indisciplinirt waren, wie sie sich auch nur aus Mangel an anderer Arbeit hier vereinigt hatten.

Als Zwangsmassregel konnte nur die Entlassung derjenigen, welche sich nicht meinen Vorschriften fügten, zur Anwendung kommen. Die Verteilung des Chinins fand durch zuverlässige Gehülfen statt, welche sich überzeugten, dass das Chinin verschluckt und nicht in der Hand, in der Kleidung oder unter der Zunge verborgen wurde, um dann später weggeworfen zu werden. Zuwiderhandelnde, welche die Kapsel hartnäckig zurückwiesen, wurden sofort entlassen.

Dieser anstrengende Dienst wurde Dank der Hingebung meiner Gehülfen und besonders von Dr. Ruy Ladisláu pünktlich ausgeführt und gestattete daher, meine Schlüsse nicht auf blosse Vermutungen, sondern auf sicher beobachtete Tatsachen zu gründen.

dos nossos auxiliares e principalmente do Dr. Ruy Ladisláu, permitindo assim, que, as nossas deduções se não bazeiem em supozições, mas, em fatos bem observados.

Alem dos operarios, existiam as familias de muitos delles que os acompanhavam e com as quais nada se podia fazer, pois que se recuzavam a tomar a quinina.

Assim, tinhamos no mesmo lugar, duas sortes de individuos em condições opostas, uns quinizados e outros não quinizados.

De Fevereiro a meiados do mez de Agosto, a profilaxia feita, administrando-se 50 centigramas de cloridrato de quinina de Merck de 3 em 3 dias, deu os melhores rezultados, conforme se vê no trabalho do Dr. Chagas (*Zeitschr. f. Hygiene* S. 321—334) (1908).

Em fins de Agosto, continuando baixo o numero de cazos de impaludismo, começámos a observar numero relativamente grande de cazos de primeira infeção, para os quais, havia certeza de não terem escapado á profilaxia em vigor e, que a principio, explicavamos por uma maior receptividade individual. Até este momento, os cazos de impaludismo eram fornecidos por individuos, que haviam transgredido ás nossas determinações.

Em Setembro, o mesmo fenomeno nos chamava a atenção, principalmente, pelo bom exito em geral do serviço profilatico, visto como aumentava o numero de operarios que então atinjia a 3.520, sendo a cifra de morbilidade reprezentada por 0,59 % ao passo que, nas familias destes, que tambem muito tinham aumentado e que se não submetiam ás medidas profilaticas, o numero de cazos de impaludismo era extraordinariamente grande e crecia sempre.

Assim, tinhamos diante de nós duas populações oferecendo perfeito contraste; de uma parte, pessoas afanando-se em trabalhos exaustivos e em magnificas condições

Ausser den Arbeitern gab es noch die Familien, von welchen viele derselben begleitet wurden; doch konnt man mit denselben nichts anfangen, da sie sich weigerten, Chinin zu nehmen.

Es gab daher am selben Orte zwei entgegengesetzte Klassen von Leuten, die teils von Chinin beeinflusst waren, teils nicht.

Vom Februar bis zur Mitte August gab die angewandte Prophylaxis (ein halbes Gramm salzsaures Chinin von Merck alle drei Tage) die besten Resultate, wie aus der Arbeit von Dr. Chagas (*Zeitschr. f. Hygiene* 1908, S. 312-334) hervorgeht.

Von Ende August an fanden sich bei einer niedrigen Gesammtzahl von Malariafällen relativ häufige Fälle primärer Infektion, trotzdem dieselben sich der üblichen Prophylaxe sicher nicht entzogen hatten, was ich Anfangs auf eine grössere individuelle Empfindlichkeit zurückführte. Bisdahin war die Malaria nur bei Leuten aufgetreten, welche den Anweisungen zuwidergehandelt hatten.

Im September fuhr diese Erscheinung fort, meine Aufmerksamkeit auf sich zu ziehen, besonders im Gegensatz zu dem guten Allgemeinresultat der Prophylaxis bei zunehmender Zahl der Arbeiter, die bereits 3.520 betrug (bei einer Mortalität von 0,59%), während innerhalb der Familien, deren Zahl ebenfalls sehr zugenommen hatte und welche sich den prophylaktischen Massnahmen nicht fügten, die Zahl von Malariafällen ausserordentlich gross und in stetem Zunehmen war.

So hatte ich vor mir zwei Klassen von Leuten, die einen vollständigen Kontrast boten; einerseits solche, die bei aufreibender Arbeit einen ausgezeichneten Gesundheitszustand zeigten; andererseits eine geringere Zahl von Frauen, Kindern, Kaufleuten und Fremden, welche vollständig von Malaria durchseucht waren.

Die Kranheitsfälle unter den in Chininbehandlung stehenden Arbeitern kamen ebensowohl an meinem Wohnorte, wie an verschiedenen anderen Plätzen zur Beobachtung.

de saude, de outra, população pouco menos numeroza e que era constituida por mulheres, crianças, negociantes, e forasteiros, totalmente atacados de impaludismo.

A morbilidade entre os operarios quinizados, era observada, não só no local, onde rezidiamos, como em varios outros.

Por essa epoca, chamou-nos tambem a atenção, o fato de operarios perfeitamente quinizados e que nunca tinham tido acessos no Xerém, indo ao Rio de Janeiro e permanecendo aí alguns dias sem tomar quinina, serem acometidos de febre palustre. Deste mez em diante, estes fatos começaram a se tornar de tal modo frequentes que afastavam qualquer duvida.

No mez de Outubro, rezolvemos modificar a quinização, estreitando mais o prazo, administrando-se daí por diante, 50 centigramas de 2 em 2 dias. Esta medida já estava sendo empregada com vantajem desde o mez anterior, entre os trabalhadores que construiam a Ponte de Iguassú, fóco dos mais perigozos, e onde os trabalhos se executavam dia e noite, trabalhando os operarios dentro d'agua.

Esta modificação trouxe uma melhoria geral, cessando os cazos de 1.ª infeção nas localidades, que seguiam a risca a quinização mais intensa. Isto, porem, de modo algum, modificou a frequencia cada vez maior, do fato que acima assinalámos, isto é, do adoecimento de individuos que passavam alguns dias no Rio de Janeiro sem o uzo da quinina.

De maneira que, uma situação absolutamente imprevista, se estava estabelecendo entre os trabalhadores e, era constituida, por esses individuos que, de volta do Rio de Janeiro, formavam elementos perigozos para o rancho onde habitavam, não só por estarem infetados, como principalmente, por serem estes, portadores de parazitos que, durante tempo mais ou menos longo, haviam sofrido a ação constante da quinina,

Zur selben Zeit wurde ich auf die Tatsache aufmerksam, dass Arbeiter, welche vorschriftsmässig Chinin gebraucht und in Xerém niemals Anfälle gehabt hatten, wenn sie nach Rio gingen und einige Tage daselbst verbrachten, ohne Chinin einzunehmen, von Malaria befallen wurden. Von diesem Monate an wiederholten sich solche Fälle so häufig, dass über die Tatsache kein Zweifel mehr bestehen konnte.

Im Oktober beschloss ich eine Modification der Chininbehandlung durch Verminderung der Intervalle, indem von da an alle zwei Tage 50 Centigramm gegeben wurden. Diese Massregel war schon seit dem vorigen Monate mit gutem Erfolge bei den Arbeitern angewandt worden, welche die Brücke über den Iguassú bauten ; es handelte sich daselbst um einen der gefährlichsten Heerde, wo die Arbeiter Tag und Nachts im Wasser arbeiteten.

Diese Abänderung war von einer allgemeinen Besserung gefolgt, indem die primären Erkrankungen an den Orten aufhörten, wo die intensivere Behandlung genau befolgt wurde. Dagegen wurden die immer häufigeren Fälle der Erkrankung von Leuten, welche einige Tage in Rio ohne Chiningebrauch verlebten, davon nicht berührt.

So entwickelte sich unter den Arbeitern eine gänzlich unerwartete Sachlage durch die Gegenwart von aus Rio zurückgekehrten Leuten, welche für ihre Umgebung gefährliche Elemente darstellten, weil sie nicht bloss infiziert, sondern auch Träger von Parasiten waren, welche während kürzerer oder längerer Zeit beständig der Chinineinwirkung unterworfen waren und an welche sie sich trotz behinderter Vermehrung gewöhnt haben konnten.

Mitte November begannen Malariaanfälle bei Leuten aufzutreten, welche alle zwei Tage Chinin genommen hatten und da dies sich wiederholte, beschloss ich täglich ein halbes Gramm zu geben, worauf die Anfälle ganz aufhörten, während am selben Orte die Malaria alle Leute befiel, welche kleinere Dosen nahmen.

que os tinha impedido de se multiplicarem e á qual se poderiam ter habituado.

Em meiados de Novembro, começaram a aparecer cazos de acessos palustres, em individuos quinizados de 2 em 2 dias e, como isto se repetisse, rezolvemos administrar 50 centigrammas, diariamente, o que fez cessar por completo os ataques de malaria; entretanto, nesta rejião, o impaludismo atacava quem quer que fosse que se submetesse a dozes menores.

A quinização diaria só poude ser feita com rigor em um local: o quilometro 54 que se achava sob as nossas vistas imediatas, e com os trabalhadores submetidos a este rejimen, ainda se observava do mesmo modo, o fenomeno do adoecimento quando iam ao Rio, embora tomassem quinina, pessoalmente por nós distribuida ainda no dia da partida. Este fato foi tambem observado com toda a evidencia, entre os medicos que adoeceram ao voltar ao Rio de Janeiro, apezar de um delles ter tido a cautela de continuar sob o mesmo rejimen durante 12 dias apoz a saida do Xerém; comtudo, 9 dias depois de ter cessado o emprego da quinina, foi acometido de impaludismo.

Uma unica dedução se impunha como concluzão aos fatos que vimos aduzindo: os hematozoarios do impaludismo tinham adquirido uma rezistencia especial á quinina.

Ao começar a profilaxia, o numero de infetados era grande; e iniciada a quinização, facilmente se debelou o parazito entre a população operaria. Com o correr do tempo e com a chegada das familias dos trabalhadores que se iam infetando aos poucos, porquanto não estavam submetidas á quinização, as anofelinas transmissoras, alimentando-se, ora nos habitantes que reprezentavam os depozitarios de virus, ou nos recemchegados não quinizados ou ainda, nos operarios quinizados de 3 em 3 dias, e que por isso possuiam o sangue em variavel gráo de riqueza quinica, dependente das horas decorridas da injestão do alcaloide, criaram para os hematozoarios, uma oportu-

Die tägliche Chinindarreichung konnte nur an einem Orte streng durchgeführt werden, der sich unter meiner direkten Aufsicht befand, nämlich bei Kilometer 54; bei den dieser Behandlung unterworfenen Arbeitern beobachtete man auch weiterhin die Erscheinung, dass dieselben erkrankten, wenn sie nach Rio gingen, obwohl sie noch am Tage ihrer Abreise, von mir persönlich verabreichtes, Chinin genommen hatten. Dasselbe wurde auch sehr deutlich bei den Aerzten beobachtet, welche nach ihrer Rückkehr nach Rio erkrankten, obgleich einer derselben ich selbst die Vorsicht hatte, nach dem Verlassen von Xerém noch 12 Tage dieselbe Behandlung fortzusetzen; trotzdem wurde derselbe neun Tage nach Einstellen des Chiningebrauches von Malaria befallen.

Aus den geschilderten Tatsachen lässt sich nur ein Schluss ziehen: die Hämatozoen der Malaria hatten eine besondere Resistenz gegen Chinin erworben.

Zu Beginn der Prophylaxe war die Anzahl der Inficierten gross, doch liessen sich die Parasiten bei der Arbeiterbevölkerung durch die eingeleitete Chininbehandlung leicht bekämpfen. Im weiteren Verlaufe und in Folge der Ankunft der Arbeiterfamilien, welche sich nach und nach inficierten, da sie kein Chinin nahmen, nährten sich die übertragenden Anophelinen bald vom Blute der Einwohner, welche die ursprüngliche Quelle der Parasiten bildeten, bald an frisch angekommenen, welche noch kein Chinin genommen hatten, bald an Arbeitern, welche alle drei Tage Chinin nahmen und deren Blut dasselbe je nach der seit der Einnahme verstrichenen Zeit in wechselnder Menge enthielt; auf diese Weise bot sich für die Hämatozoen eine Gelegenheit zur Anpassung, welche ihnen schliesslich eine Resistenzfähigkeit verlieh, die es ihnen ermöglichte, im Lauf der Generationen auffallend chininresistente Rassen zu bilden.

Im Januar 1908 erreichte die Arbeiterzahl 4000 und die Leute nahmen an einigen Tagen täglich, an anderen nur alle zwei Tage Chinin ein. An einigen

nidade de adaptação, que terminou por lhes dar a rezistencia que os capacitou, atravez das suas gerações, a se diferenciar claramente em raças rezistentes á quinina.

Em Janeiro de 1908, o numero de operarios elevava-se a 4.000 homens que eram quinizados, em alguns logares, diariamente, em outros de 2 em 2 dias ; em algumas localidades nunca conseguimos, por varios motivos, uma organização regular, que permitisse segura quinização.

Assim, por esta epoca, para algumas *ranchações* que abrigavam de 80 a 140 homens, 8 a 10 % dos seus moradores tinham se tornado gametoforos, e, como a quinização era em igual doze para estes e para os não infetados, os transmissores, que sanguesugassem um gametoforo, sempre que repetissem as refeições, encontravam prezente no sangue uma quantidade de alcaloide mais ou menos igual para todos os operarios. Deste modo, passando de gametos acostumados a viver em meio onde a quinina estava sempre prezente, os hematozoarios, continuavam já em outro ciclo, de ooquineto até á refeição final que lançasse o esporozoito na circulação, a se dezenvolver ainda na prezença da quinina.

E foi assim que, com o tempo, passando dos depozitarios de virus para as familias dos operarios, destas para os trabalhadores quinizados insuficientemente de 3 em 3 dias, aos poucos, se foi formando uma raça de parazitos de crecente rezistencia ao alcaloide, circumstancia, que nos obrigou a estreitar a distribuição para cada 2 dias em logares onde, mezes antes, a quinização mais espaçada era perfeitamente suficiente.

Estes fatos não se observavam em todas as localidades, onde se executava a profilaxia, porem, em logares já dezignados acrecidos do local quilometro 43, onde se formou uma raça altamente rezistente. Aos individuos que aí trabalhavam, quando se infetavam tornava-se necessario aumentar a doze terapeutica e, apezar disto, permane-

Plätzen wurde aus verschiedenen Gründen niemals eine geordnete Organisation erzielt, welche einen regelmässigen Chiningebrauch gestattet hätte.

Zu dieser Zeit waren in einigen Niederlassungen von 80 bis 140 Leuten 8 bis 10% der Einwohner zu Gametenträgern geworden und, da sie dieselben Chinindosen nahmen, wie die uninficierten, so fanden die übertragenden Mücken, nachdem sie an einem Gametenträger gesogen hatten, bei jeder neuen Aufnahme von Blut, in demselben das Alcaloid und zwar in einer Proportion, welche bei allen Arbeitern annähernd dieselbe war. Demgemäss begannen die Parasiten als Gameten, welche an ein beständig Chinin enthaltendes Medium gewöhnt waren und machten den nächsten Entwicklungscyclus vom Ookineten bis zur Uebertragung der Sporozoiten durch die Mücke auf den Menschen beständig unter dem Einflusse des Chinins durch.

Auf diese Weise bildete sich eine Parasitenrasse von immer grösserer Chininresistenz aus, indem sie von den ursprünglichen Krankheitsträgern auf die Familien der Arbeiter und von diesen auf die nicht genügend — nämlich nur alle drei Tage — mit Chinin behandelten Arbeiter überging ; dieser Umstand zwang mich das Intervall der Chinindosen auf zwei Tage herabzusetzen, während einige Monate vorher am selben Orte eine weniger häufige Darreichung völlig genügte.

Diese Verhältnisse wurden nicht an allen Orten beobachtet, wo eine Prophylaxe stattfand, sondern nur an den bereits bezeichneten Stellen und ausserdem bei Kilometer 43, wo sich eine sehr chininresistente Rasse ausbildete. Bei den daselbst arbeitenden Leuten musste bei stattgefundener Erkrankung die therapeutische Dose erhöht werden und trotzdem zeigten sie ein grösseres Mittel von Krankheitstagen, als die Malariakranken von anderen Stellen.

Im Januar beobachtete ich, dass einer von den Aerzten, Dr. Ruy Ladisláu, der seit Juni täglich 50 Centigramm einnahm,

ciam doentes maior numero de dias que os impaludados das outras localidades.

Em Janeiro, vimos um dos medicos, o Dr. Ruy Ladisláu, que se quinizava desde Junho, com 50 centigramas diarios, interromper por 2 dias esta observancia, recomeçando findo este prazo a se quinizar nas mesmas dozes, e logo ser acometido de violento acesso de terçã maligna. Tinhamos conhecimentos de fatos mais ou menos analogos, porem, por não o podermos asseverar seguramente, temiamos errar, tomando-os em consideração. Finalmente, não havia mais motivos para duvida. Os fatos izolados, a principio sorpreendentes, foram-se acumulando.

Em certos logares, devido ao conjunto de circumstancias já referidas, a unica quinização que ainda lograva dar rezultados, era *a de 50 centigramas tomados sem excepção de um só dia.*

Com estas dozes diarias nunca observámos irromper acessos; mas o que verificámos e afirmamos é que varios *individuos quinizados diariamente alguns, nos primeiros mezes com 30 centigramas e depois com 50 centigramas durante o espaço de 8 mezes a mais de um ano e um delles com 11 mezes de quinização diaria a 50 centigramas, não tendo havido sequer uma falta* (nosso cazo), *ao abandonarem definitivamente a rejião e o uzo do profilatico, depois de 9 a mais de 30 dias foram acometidos de impaludismo.* Houve numerozos cazos de individuos, que, quinizados diariamente *com 30 centigramas,* máo grado esta doze, se infetaram; mais raros os que em uzo diario de 50 centigramas, interrompendo por um a dois dias somente o emprego da quinina foram prezas da malaria.

O que avultou e complicou de muito a profilaxia foi o numero de pessoas quinizadas intensamente durante mezes sucessivos que, ao se afastar temporariamente dos fócos onde a malaria reinava intensa, ao deixar o medicamento se surpreendiam com impaludismo.

nachdem er einmal während zwei Tagen ausgesetzt hatte, obwohl er nachher den Chiningebrauch in derselben Dose wieder aufnahm, einen heftigen Anfall von Tertiana maligna durchmachte. Aehnliche Fälle waren mir bereits bekannt, doch scheute ich mich, in Hinsicht auf eine weniger zuverlässige Beobachtung, Schlüsse daraus zu ziehen. Doch blieb schliesslich kein Grund zum Zweifel mehr, da die anfangs vereinzelten und überraschenden Fälle sich häuften.

In Folge der auseinandergesetzten Verhältnisse liess sich an gewissen Orten nur durch *tägliche, auch nicht einmal unterbrochene Einnahme von 0,5 Chinin* ein Resultat erzielen.

Bei dieser täglichen Dosis beobachtete ich niemals das Auftreten von Anfällen; wohl aber stellte ich bestimmt fest, dass verschiedene Leute nach definitem Verlassen der Gegend und Aufgeben der prophylaktischen Dosen, nach einem Zeitraume von 9 bis 30 Tagen von Malaria befallen wurden, obgleich sie vorher täglich Chinin genommen hatten. Mehrere derselben nahmen in den ersten Monaten 0,3 und nachher, während acht Monaten bis zu mehr als einem Jahre, 0,5 Gramm, während ich selbst erkrankte, obgleich ich während 11 Monaten, ohne eine Ausnahme, täglich ein halbes Gramm einnahm. Es gab zahlreiche Fälle von Leuten, welche trotz täglichem Gebrauche von 30 Centigramm sich inficierten und seltenere, die bei einer Tagesdose von 0,5 nach ein- bis zweitägigem Aussetzen an Malaria erkrankten.

Was besonders hervortrat und die Prophylaxe erschwerte, war die Anzahl von Leuten, welche während einer Anzahl von Monaten ununterbrochen Chinin genommen hatten und, nach Verlassen der intensiven Malariaheerde und Aussetzen des Medicamentes, von Malaria überrascht wurden.

So wurde uns klar, dass in gewissen Arbeitergruppen, die Plasmodien sich, sowohl beim Menschen, wie bei den übertragenden Stechmücken, immer in einem chininhaltigen Medium befanden und in

Para nós ficou patenteado, que, em certos nucleos de operarios, os plasmodios se cultivavam quer nos homens, quer nos transmissores, sempre num meio quinizado e, devido a esta circumstancia, formaram-se raças rezistentes á quinina.

Os fatos acima apontados não condenam a profilaxia quinica, em trabalhos da natureza dos que a Inspetoria Geral de Obras Publicas levou a cabo.

As raças rezistentes não se formaram simultaneamente em toda a zona submetida á quinização; mas somente nos nucleos de população, onde concomitantemente existiam os já referidos fatores eficientes da rezistencia.

No quilomero 54 onde estes fatos eram mais constantes e onde a profilaxia existia ha mais tempo, por isso mesmo, tinhamos a raça mais rezistente; para esta localidade, já havia uma raça que *evolvia dando acessos, em individuos quinizados diariamente a 30 centigramas.* Aí a quinização de 2 em 2 dias a 50 centigramas já era insuficiente para prevenir, a interrupção de 2 dias num individuo quinizado a 50 centigramas, embora recomeçasse o uzo do alcaloide findo este prazo, já era incapaz de impedir o acesso, que se dava 2 ou 3 dias apoz se ter recomeçado a injerir os 50 centigramas.

Foi entre os trabalhadores rezidentes neste quilometro que, com segurança, pudemos afirmar que apezar de serem quinizados diariamente nas dozes de 50 centigramas, operarios até então imunes, depois de permanencia de 4 mezes a mais, máo grado termos tomado a precaução de não excetual-os da quinização, nem no dia da partida, verificámos o impaludismo acometer a muitos delles quando, já na cidade do Rio de Janeiro, algum tempo depois de terem abandonado o uzo da quinina.

Até na enfermaria, observámos que os doentes das zonas citadas, ofereciam maior rezistencia ao especifico, principalmente os do quilometro 54 e 47, havendo necessidade

Folge dessen chininresistente Rassen gebildet wurden.

Die angeführten Tatsachen sprechen nicht gegen die Chininprophylaxe bei derartigen Arbeiten, wie sie die Aufsichtsbehörde der öffentlichen Arbeiten zu Ende führte.

Die chininresistenten Rassen bildeten sich nicht gleichzeitig in der ganzen dem Chiningebrauche unterworfenen Zone, sondern nur in denjenigen Gruppen, wo zugleich die bereits erwähnten Bedingungen für die Erhöhung des Widerstandes zur Geltung kamen.

Bei Kilometer 54, wo diese Verhältnisse am beständigsten waren und wo die Prophylaxe am frühesten begonnen hatte, hatten wir deswegen auch die widerstandsfähigste Rasse, die *selbst bei Individuen, die täglich 30 Centigramm nahmen, sich entwickelte und Anfälle hervorrief.* Hier war es für die Vorbeugung bereits ungenügend, alle zwei Tage Chinin zu geben und wenn bei Leuten, die ein halbes Gramm einnahmen, eine Unterbrechung von zwei Tagen stattfand, so war die Wiederaufnahme der Chininbehandlung nicht mehr im Stande dem Anfalle vorzubeugen, welcher dann zwei bis drei Tage nach derselben stattfand.

Bei den hier lebenden Arbeitern konnten wir mit Sicherheit beobachten, dass auch bisher uninficierte, welche täglich ein halbes Gramm Chinin eingenommen hatte und sich vier Monate an Ort und Stelle aufhielten und trotzdem ich die Vorsicht gebraucht hatte, auch am Tage ihrer Abreise den Chiningebrauch nicht zu unterbrechen, zum grossen Teile bereits in Rio einige Zeit nach Aussetzen des Chinins von Malaria befallen wurden.

Selbst im Spitale beobachteten wir, dass die Patienten aus den befallenen Zonen der specifischen Behandlung mehr Widerstand entgegensetzten und zwar ganz besonders die von Kilometer 54 und 47, so dass man grössere Dosen anwenden musste, als beim Durchschnitte der Patienten von anderer Herkunft.

de empregarmos maiores dozes que as do geral dos doentes de outras proveniencias.

Das nossas verificações concluimos que a quinização constante entre populações impaludadas, quando não atinjir de uma só vez á massa total de habitantes, acabará por dar aos hematozoarios os meios de ir adquirindo uma rezistencia ao especifico a ponto de se diferenciarem em raças.

Aus meinen Erhebungen schliesse ich, dass eine fortgesetzte Chininbehandlung bei malariainficierten Bevölkerungen, falls sie nicht auf einmal die gesammten Einwohner betrifft, schliesslich den Hämatozoen die Mittel liefert, nach und nach eine solche Resistenz gegen das specifische Heilmittel zu erwerben, dass sie zur Bildung einer unterschiedlichen Rasse führt.

Algumas considerações sobre a infeção tuberculoza e o seu respetivo virus

PELO

Dr. A. Fontes,

(Assistente.)

Bemerkungen ueber die tuberculoese Infection und ihr Virus

VON

Dr. A. Fontes,

(Assistenten am Institute.)

Grande cópia de trabalhos tem sido aprezentada ultimamente sobre a forma granular de Much, que se orijina da ação da tuberculo-ciraze sobre o conteúdo cirogordurozo do bacilo de Koch quando existente no púz ou que se mostra nos tecidos infetados por tuberculoze quando os bacilos não possuem materiais de natureza graxa no seu interior. Esses bacilos não são, por consequencia, revelaveis pelo Ziehl que até ha poucos anos atraz traduzia a reação carateristica do bacilo da tuberculoze.

Nesses cazos, o metodo de Gram ou qualquer de suas modificações que sem grande vantajem se tem aprezentado, mostra a existencia de bacilos ou granulações, que são os responsaveis diretos pelas lezões verificadas.

A inoculação destes materiais mostra sempre que se trata da infeção tuberculoza.

Na lepra a analojia prevê que se observe o mesmo fenomeno que na tuberculoze, e nos numerozissimos cazos em que a pesquiza do bacilo é negativa, o que vem

Die granulären Formen von Much, welche durch die Wirkung der Tuberculocirase auf den Wachs- und Fettgehalt des Koch'schen Bacillus entstehen, wenn derselbe im Eiter existiert, oder in tuberkulösen Geweben auftreten, wenn die Bacillen kein fetthaltiges Material einschliessen, haben neuerdings den Gegenstand zahlreicher Arbeiten gebildet. Solche Bacillen lassen sich natürlicherweise durch die Ziehl'sche Methode, welche bis vor Kurzem als charakteristische Reaktion der Tuberkelbacillen galt, nicht sichtbar machen.

In solchen Fällen zeigt die Gram'sche Methode (oder eine ihrer Modificationen, wie sie ohne besondere Vorteile angegeben wurden) dàs Vorkommen von Bacillen oder Granulationen, welche für die nachgewiesenen Veränderungen direkt verantwortlich sind.

Die Einimpfung solchen Materiales zeigt regelmässig, dass es sich um eine tuberkulöse Infektion handelt.

In analoger Weise lässt sich bei der Lepra dasselbe Phänomen, wie bei der Tuberculose, erwarten und bei den zahlreichen Fällen, in welchen der Nachweis

sobremodo complicar o diagnostico (lepra anestezica), é possivel que a forma granular do bacilo de HANSEN seja revelada e que desta sorte o diagnostico possa ser feito, atendendo principalmente ao volume das granulações muito maior nestas que nos bacilos da tuberculoze.

D'aí se infere que o papel da granulação é preponderante, tanto em relação ao organismo infetado como ao bacilo, pois que essa forma é a de maior rezistencia que elle aprezenta.

Pudemos experimentalmente determinar a função da granulação em relação ao bacilo, e isso consta de trabalho já entregue á redação destas « Memorias », que oportunamente será publicado. Acompanhando o dezenvolvimento das culturas homojenias pudemos verificar que a granulação por um processo de divizão analogo á gemulação dá orijem a outras granulações que se tornam centros de reprodução por sua vez.

Durante certa faze de dezenvolvimento, as granulações conservam-se ligadas por delgados filamentos, constituindo grumos, o que explica, juntamente com o meio de reprodução acima referido, o paralelismo dos bacilos em grumos, a correspondencia linear e as diferenças de volume das granulações.

Mais tarde a elaboração e o depozito de substancias diversas entre as quais aprezentam maior importancia as de natureza graxa, sobrecarregam esses filamentos de modo que elles se rompem, simulando divizão lonjitudinal.

Estas observações foram feitas em preparações córadas pela hematoxilina de HEIDENHAIN e DELAFIELD e pelo metodo de coloração que propuz para diagnostico diferencial do bacilo de KOCH com os outros acido-rezistentes e que se presta ao

des HANSEN'schen Bacillus nicht gelingt (was die Diagnose ganz besonders erschwert), kann man vielleicht die granuläre Form des Leprabacillus nachweisen und so die Diagnose machen, indem man berücksichtigt, dass hier das Volumen der Granulationen viel grösser ist, als bei den Tuberkelbazillen.

Es ergibt sich so die wichtige Rolle der Granula, sowohl in Hinsicht auf den befallenen Organismus, als für den Bacillus selbst, der in dieser Form die grösste Widerstandsfähigkeit darbietet.

Die Function der Granulationen in ihrer Beziehung zum Bacillus habe ich experimentell nachweisen können, wie aus einer Arbeit hervorgeht, welche bereits der Redaction der « Memoiren » dieses Instituts übergeben wurde und welche bei passender Gelegenheit veröffentlicht werden soll. Indem ich die Entwicklung der homogenen Kulturen verfolgte, konnte ich feststellen, dass die Granula durch einen der Sprossung analogen Teilungsprocess neue Granula erzeugen, welche wiederum zu Reproductionscentren werden.

Während eines gewissen Entwicklungsstadiums bleiben die Körner durch zarte Fäden verbunden und bilden so kleine Massen, was unter Berücksichtigung der erwähnten Vermehrungsweise, sowohl die parallele Richtung der Bacillen in diesen Klümpchen, als auch die Anordnung in Reihen und die Grössenunterschiede der Granula erklärt.

Später erfolgt durch die Bildug und Ablagerung verschiedener Substanzen (unter welchen die fettartigen von besonderer Wichtigkeit sind) eine Ueberladung dieser Filamente, so dass sie zerreissen, wodurch eine Längsteilung nachgeahmt wird.

Diese Beobachtungen wurden an Präparaten gemacht, welche mit Hämatoxylin nach HEIDENHAIN und DELAFIELD und nach der, von mir zur Differenzierung der KOCH'schen von anderen säureresistenten Bacillen vorgeschlagenen Methode gefärbt waren ; letztere eignet sich zum Studium

estudo da estrutura desses bacilos por delles dar a dupla coloração e revelar desta sorte a prezença de substancias graxas, quando nelles existentes. Verificações tais foram feitas, tanto em culturas como em produtos patolojicos (puz), ganglios e pulmões tuberculozos.

Em preparações córadas pela hematoxilina e fortemente diferenciadas observam-se *granulações refrinjentes nas quais nitidamente se vê um plano de divizão de modo a se formarem duas porções deziguais que aprezentam os bordos córados, mostrando haver aí uma condensação de substancia cromatica; o centro da granulação aprezenta-se como um ponto não córado.* Esse fato dá orijem á existencia no grumo de uma granulação maior que as outras. Acreditamos que a reprodução do bacilo da tuberculoze confirma a concepção de HARTMANN sobre os nucleos polienérjides, e, assim, a granulação reprezentaria, como de fato o faz, o centro de reprodução. Em outras palavras: *a granulação é o elemento vivo infetante na tuberculoze.*

Verifica-se isso nos cazos patolojicos onde o bacilo não poude ser revelado e onde a granulação existe. Na mesma escrofula, até onde nossa observação poude chegar, não se consegue demonstrar a prezença de bacilo pela reação classica, comquanto exista a granulação ou grumo de granulações, ligadas entre si, revelaveis pelo metodo uzual de GRAM.

Que a granulação é o elemento infetante, conseguimos demonstrar separando-a, no puz tuberculozo dos bacilos que aí pudiam existir por filtros BERKEFELD, modelo NORDMEYER, que não davam passajem ao *vibrio-cholerœ*, á *sarcina lutea* e ao virus da *cholera gallinarum*. Assim tambem se explica e se demonstra a tuberculoze latente.

Foi o que obtivemos com a inoculação de puz filtrado em cobaias que, sacrificadas

dieser Bacillen, weil sie eine Doppelfärbung gibt und so das Vorkommen fettartiger Substanzen anzeigt. Es wurden nicht nur Kulturen, sondern auch inficierte Organismen untersucht und zwar von letzteren Eiter, sowie tuberkulöse Lymphdrüsen und Lungen.

In mit Hämatoxylin gefärbten und stark differenzierten Präparaten beobachtet man *stark lichtbrechende Granula, in welchen man deutlich eine Teilungsebene erkennt; es bilden sich so zwei ungleiche Teilstücke, deren gefärbte Ränder zeigen, dass daselbst eine Verdichtung der chromatischen Substanz stattfand, während das Centrum als ungefärbter Punkt erscheint.* Durch diesen Vorgang wird im Innern des Klümpchens ein Granulum gebildet, welches grösser ist, als die übrigen. Ich glaube, dass die Vermehrung des Tuberkelbazillus die HARTMANN'sche Idee der polyenergetischen Kerne (1909) bestätigt und dergestalt die Granulation das Reproduktionscentrum darstellen würde, wie es tatsächlich der Fall ist. In anderen Worten: *Bei der Tuberculose ist die Granulation das lebende und infektiöse Element.*

Es ergibt sich dies durch die Untersuchung pathologischer Zustände, wo der Bacillus sich nicht sichtbar machen lässt, während die Granulationen vorhanden sind. Bei der Scrophulose selbst gelang es mir, soweit meine Untersuchungen reichten, nicht, durch die klassische Färbung Bacillen nachzuweisen, während durch die gewöhnliche Gram'sche Methode Granula oder Anhäufungen gegenseitig verbundener Körnchen sichtbar gemacht werden.

Dass die Granulationen wirklich das infektiöse Element sind, konnte ich beweisen, indem ich sie im tuberculösen Eiter von etwa vorhandenen Bacillen durch BERKEFELD'sche Filter (Modell von NORDMEYER) trennte; letzteres liess Choleravibrionen, *Sarcina lutea* und das Virus der Hühnercholera nicht passieren.

Auf dieselbe Weise lässt sich die latente Tuberculose erklären und nachweisen.

ao cabo de um mez não revelaram lezão que induzisse a crer em tuberculoze, salvo a existencia de celulas embrionarias, que possuiam granulações incluidas e revelaveis pelo GRAM. Inoculações feitas com os organs desses animais em outras cobaias mostraram *que a tuberculoze se reproduziu em serie pois que os animais sacrificados, 6 mezes depois, mostravam em córtes dos ganglios e pulmões bacilos de tuberculoze em numero muito pequeno, porém caraterizaveis pela hematoxilina pela solução de* ZIEHL, *tratada depois pelo acido azotico ao terço e pelo* ZIEHL-GRAM (FONTES). *Durante o prazo de 5 mezes, a cobaia se conservou em saude aparente.*

Outra cobaia inoculada no peritônio com puz filtrado e sob a tecnica acima referida viveu 6 mezes com aparencia de saúde; sacrificada ao cabo desse tempo, *mostrou bacilos nos pulmões*, verificados em cortes desse orgam.

Essas experiencias nos mostram que em ambos os cazos o material da infeção se atenuou pela filtração, pois que em um delles o puz proveiu de ganglios cazeificados de uma cobaia infetada com tuberculoze humana e em outro cazo de um escarro purulento.

Acreditamos que estas observações nos mostram o caminho para a demonstração da tuberculoze latente, como deve existir nas tuberculozes locais antes de suas manifestações, que em geral se aprezentam em virtude da diminuição de rezistencia do tecido.

Outro ponto muito importante a elucidar é o da herança tuberculoza; nada impede que a granulação se transmita ao feto atendendo ás dimensões della, que são compativeis com a passajem atravez o filtro.

Acreditamos que, não só se herda o terreno tuberculizavel, como o virus sob a

Ich erreichte dies durch Verimpfung von filtriertem Eiter auf Meerschweinchen, welche nach einem Monate getötet wurden und ausser dem Vorkommen von Rundzellen mit eingeschlossenen, nach GRAM färbbaren Körnchen nichts aufwiesen, was auf Tuberkulose deutete. Material von den Organen dieser Tiere, auf ein anderes Meerschweinchen übertragen, zeigte, *dass sich die Tuberkulose in Serien fortpflanzte, indem dieses Tier bei der Tötung nach 6 Monaten in Lymphdrüsen- und Lungenschnitten Tuberkelbazillen in sehr geringer Zahl aufwies, welche sich durch Färbung mit Hämatoxylin und* ZIEHL'*scher Lösung und Entfärbung mit Salpetersäure (1:2), sowie durch Färbung mit* ZIEHL-GRAM (FONTES) *darstellen liessen. Während einer Beobachtungszeit von 5 Monaten war das Meerschweinchen anscheinend gesund.* Ein anderes Meerschweinchen, welches unter Befolgung der beschriebenen Technik intraperitoneal mit tuberkulösem Eiter geimpft wurde, lebte noch sechs Monnate ohne Krankheitserscheinungen; es wurde dann getötet und enthielt in den Lungen Bacillen, welche in Schnitten nachgewiesen wurden.

Diese Versuche zeigen, dass, in beiden Fällen, das infektiöse Material durch die Filtration eine Abschwächung erlitt, da in einem Falle Eiter aus den verkästen Lymphdrüsen eines mit menschlicher Tuberculose inficierten Meerschweinchens und im anderen Falle eitriges Sputum verimpft wurde.

Ich glaube, dass diese Beobachtungen uns den Weg für den Nachweis der latenten Tuberkulose zeigen, wie sie bei der localen Tuberculose vor dem Auftreten der Heerde besteht, welche in der Regel in Folge einer Herabsetzung des normalen Resistenz der Gewebe auftreten.

Ein anderer wichtiger Punkt, welcher der Aufklärung bedarf, ist die Vererbung der Tuberculose; hier steht einer Uebertragung der Granulation auf den Fötus nichts im Wege, da ihre geringe Dimensionen ja die Passage durch Filter gestatten.

fórma de granulação, que póde permanecer em latencia (na cobaia durante 1 mez) ou em evolução lenta (cobaia inoculada em serie e cobaia inoculada no peritônio, durando a evolução 6 mezes). Os cazos de escrófula podem ser considerados como reprezentantes desses tipos de herança.

Na clinica são muito frequentes os cazos que não podem ser explicados por contajio, principalmente na primeira infancia, onde a escrofula faz devastações e se manifesta por suas modalidades proteiformes.

Ha mesmo quem acredite — e nós estamos entre estes — que o proprio raquitismo é consequencia da infeção tuberculoza. (MARFAN, 1910).

Em rezumo: — A infeção tuberculoza é devida á granulação do bacilo que nelle reprezenta a unidade vital; é o seu centro de reprodução. Sua divizão se faz por processo semelhante aos dos nucleos, descrito por HARTMANN (1909) e HARTMANN & CHAGAS (1910). A granulação pode existir em latencia ou evolver tão lentamente, que os bacilos formados permaneçam sem cauzar dano especial, ou, dando orijem aos cazos clinicos, onde a tuberculoze é prezumida e não pode ser demonstrada pelos metodos classicos de coloração. Pode-se experimentalmente reproduzir essa infeção muitissimo atenuada filtrando em véla, o puz virulento.

A experimentação em 160 cobaias infetadas com tuberculoze virulenta nos autoriza a crêr na atenuação da infeção conseguida pela injeção de tuberculo-ciraze.

O tipo clinico e anatomico da tuberculoze nesses animais modificou-se, aprezentando-se os ganglios nos animais que receberam a tuberculo-ciroze, inteiramente cazeificados, constituindo abcessos que evolvem até a eliminação espontanea do puz e consequente cicatrização, *sem formação*

Ich denke, dass man sowohl, die Disposition zur Tuberculose, als auch das Virus in seiner granulären Form ererbt; letzteres kann latent bleiben oder sich langsam entwickeln, in Uebereinstimmung mit dem Resultate der obigen Versuche. Die scrofulösen Erkrankungen können als Beispiele dieses Vererbungstypus angesehen werden.

In der Klinik sind Fälle, welche sich durch Ansteckung nicht erklären lassen, sehr häufig, besonders in der ersten Kindheit, wo die Skrofulose in ihren manigfachen Formen verheerend auftritt. Es gibt übrigens Autoren, welche selbst die Rhachitis als Folge einer tuberkulösen Infektion auffassen (MARFAN 1910), und ich selbst teile diese Anschauung.

Kurz gefasst: Die tuberkulöse Infection wird durch die Granula des Bacillus, welche die Lebenseinheit desselben darstellen, verursacht. Sie sind sein Reproduktionszentrum. Ihre Teilung findet in ähnlicher Weise statt, wie es von HARTMANN (1909) und HARTMANN und CHAGAS (1910) für die polyenergiden Kerne beschrieben worden ist. Das Vorkommen der Granulationen kann die klinischen Fälle erklären, bei welchen Tuberculose angenommen wird, ohne dass sie durch die klassische Färbemethode nachweisbar wäre; sie können auch zur Bildung von Bacillen führen, ohne eine schwere Schädigung zuveranlassen. Eine solche stark abgeschwächte Infektion lässt sich durch Filtration des Eiters mit BERKEFELD-NORDMEYER'scher Kerzen erzielen

Meine Beobachtungen an 160 Meerschweinchen, welche mit virulenter Tuberkulose infiziert wurden, gestattet mir, die Abschwächung der Infektion durch Injection von Tuberculocirase zu behaupten. Bei diesen Tieren änderte sich der anatomische und klinische Typus der Tuberkulose, indem sich bei den behandelten Meerschweinchen die Lymphdrüsen vollständig verkäst erwiesen und Abcesse bildeten, welche zur spontanen Entleerung des Eiters und nachfolgender Vernarbung führten,

de fistula; isto em relação aos ganglios sub-cutaneos. Relativamente aos mais profundos, aprezentaram-se elles inteiramente cazeificados, constituindo fócos de supuração nitidamente limitados por espessa membrana (ganglios do hilo do figado e mediastino). Alguns animais aprezentaram a infeção da pele claramente caraterizada por tuberculides.

ohne Weiterbestehen einer Fistel, soweit es sich um subcutane Drüsen handelte; die tief gelegenen Leberhilus- und Mediastinaldrüsen erschienen vollkommen verkäst und bildeten durch eine dicke Membran scharf abgegrenzte Eiterheerde. Bei einigen Tieren zeigte sich eine durch Tuberculide gekennzeichnete Hautinfektion.

BIBLIOGRAFIA.

HARTMANN, MAX . . . 1909 Polyenergide Kerne.
Biol. Centralbl. Bd. XXIX, n. 15 und 16 ausgegeben am 1 und 15 August 1909.

HARTMANN, MAX & CHAGAS, CARLOS . 1910 Estudos sobre flajelados.
Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Ano II. Fac. I.

MARFAN, A., B. . . . 1910 Rachitisme et tuberculose.
« La Presse Médicale » n. 2. — 5 janvier, pag. n. 16.